Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN
L. BRAUNER MÜNCHEN
E. BÜNNING TÜBINGEN

50. BAND, 5. HEFT

MIT 57 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 16. JANUAR 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

Preis DM 25.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u.ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. E. Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelm-Straße 5.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2701

50. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Seite

Böhmer, H., Untersuchungen über das Wachstum und den Feinbau der Zellwände in der Avena-Koleoptile. Mit 22 Textabbildungen 461

Guttenberg v. H., und B. Reiff, Der Mechanismus der Narbenbewegung von Mimulus sp. in seiner Abhängigkeit von der oxydativen Atmung. 498

Hess, D., Die Regulatoren des Streckungswachstums bei Streptocarpus wendlandii Utrecht und ihre Veränderungen während der Blühinduktion. Mit 11 Textabbildungen 504

Klämbt, H.-D., Untersuchungen über Entwicklung und Wuchsstoffhaushalt bei Ribes-Arten. I. Mitteilung. Cytologische und wuchsstoffphysiologische Untersuchungen der Samen je einer Kultursorte von Ribes nigrum L. und Ribes petraeum Wulf. × Ribes multiflorum Kit. nach Selbst- und Fremdbestäubung. Mit 22 Textabbildungen 526

Melchior, G. H., Über den Abbau von Indolderivaten. II. Abbau durch ein Enzymsystem aus Weißkohl und ein Vergleich der Indolderivate in UV-bestrahlten und unbestrahlten Weißkohlpflanzen. Mit 1 Textabbildung . 557

Wolf, J., Einfluß einer vorangegangenen Lichtperiode auf die Größe der CO_2-Ausscheidung grüner (unreifer) Äpfel im Dunkeln. Kurze Mitteilung. Mit 1 Textabbildung 576

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 50, S. 461—497 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS WACHSTUM UND DEN FEINBAU DER ZELLWÄNDE IN DER AVENA-KOLEOPTILE*

Von

HARALD BÖHMER

Mit 22 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. September 1957)

A. Einleitung

Beim Streckungswachstum der pflanzlichen Zelle vergrößert sich die Oberfläche der Zellwand sehr stark. Um die Mechanik dieser Oberflächenvergrößerung zu klären, ist zunächst eine genaue Kenntnis des Feinbaues der Zellwand nötig.

Untersuchungen mit polarisiertem Licht und Röntgenstrahlen ergaben, daß die Cellulose in der primären Zellwand in Form von sublichtmikroskopischen Fibrillen vorliegt, die ein loses Netzwerk bilden (FREY 1926, HEYN 1933 und 1934, FREY-WYSSLING 1935). Durch das Elektronenmikroskop konnten dann die Cellulosefibrillen in macerierten Zellwänden direkt sichtbar gemacht werden.

Nun wurde versucht, das Wachstum der Zellwände besonders durch elektronenoptische Untersuchungen zu klären. Die Ergebnisse führten zur Aufstellung von drei verschiedenen Wachstumstheorien: Mosaikwachstum (FREY-WYSSLING und STECHER 1951), „multi-net-growth" (ROELOFSEN 1951) und bipolares Spitzenwachstum (MÜHLETHALER 1950b).

FREY-WYSSLING und STECHER untersuchten die Wandstruktur von macerierten meristematischen Zellen aus der Wurzelspitze von Maiskeimlingen. In den macerierten Zellwänden zeigten sich im Elektronenmikroskop ovale Lockerstellen in der Fibrillenstruktur. Die Aufnahmen erwecken den Eindruck, daß die Fibrillen an diesen Stellen auseinandergedrückt wurden, da sich um die Auflockerungsfelder häufig zirkular verlaufende Fibrillen befinden; die Umgebungszone ist auch oft verdickt. FREY-WYSSLING und STECHER deuten diese Befunde wie folgt: Das interfibrilläre Plasma erfährt in lokalen elliptischen Stellen ein starkes Wachstum, während die Bildung neuer Cellulosefibrillen für kurze Zeit unterbleibt. Dadurch werden die bereits niedergelegten Mikrofibrillen auseinandergedrängt. Entstehen viele solche Aufsprengungen gleichzeitig, so ergibt sich aus dieser mosaikartigen Felderung ein Streckungswachstum der Zellwand. Die ausgeweiteten Areale werden nachher durch Einflechtung neuer Cellulosefibrillen wieder zu einer einheitlichen Textur verdichtet. Dieser Vorgang spielt sich abwechslungsweise auf der ganzen Zellwandfläche ab. Das Flächenwachstum der Meristemzellwände besteht demnach in einem zeitlich gestaffelten Mosaikwachstum (FREY-WYSSLING und STECHER 1951).

* Dissertation der Naturw.-Math. Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

ROELOFSEN untersuchte macerierte Haare von Ceiba pentranda, Asclepias cornuti und Gossypium im Elektronenmikroskop und fand eine Art Wandvergrößerung, die er „multi-net-growth" nannte. ROELOFSEN konnte drei verschiedene Fibrillenschichten in der Zellwand unterscheiden: In der äußeren Schicht sind die Fibrillen in der Längsrichtung locker gelagert; in der mittleren Schicht sind die Fibrillen auch noch axial orientiert, aber enger verflochten; in der inneren Schicht liegen sie quer zur Wachstumsrichtung. ROELOFSEN nimmt nun an, daß beim Wachstum innen ständig Fibrillen in der Querrichtung eingelagert werden. Die Wand vergrößert sich auf der ganzen Fläche, und dadurch werden die Fibrillen der weiter außen liegenden Schichten mehr und mehr in die Längsrichtung gezogen. Die neuen Fibrillen liegen also zunächst quer in der Innenwand; durch später hinzukommende Fibrillen werden sie langsam in die äußeren Wandschichten gedrängt. Dabei verändern sie stetig ihre Richtung, so daß sie schließlich, wenn sie ganz außen angelangt sind, meist parallel zur Längsachse der Zelle verlaufen (ROELOFSEN 1951).

Die gleiche Art der Wandvergrößerung fanden ROELOFSEN und HOUWINK dann später auch bei den Markzellen von Juncus. Vor dem Streckungswachstum sind die Fibrillen auch in der äußeren Schicht vorwiegend quer orientiert. Bei der Membranvergrößerung werden dann die Fibrillen der äußeren Wandschichten axial umorientiert, während innen ständig neue Cellulosefibrillen eingebaut werden, die senkrecht zur Längsachse liegen (ROELOFSEN und HOUWINK 1954).

MÜHLETHALER macerierte Mais- und Haferkoleoptilen verschiedener Wachstumsstadien und untersuchte das Cellulosegerüst im Polarisations- und im Elektronenmikroskop. Bei Parenchymzellen beobachtete MÜHLETHALER schon in sehr frühen Wachstumsstadien Kantenverstärkungen aus enggelagerten, längsorientierten Fibrillen, die nach seiner Auffassung eine gleichmäßige Dehnung der Wand in der Längsrichtung unmöglich machen. Die Epidermiszellen zeigten besonders starke Verdickungen der Außenwand. MÜHLETHALER konnte dann an wenigen Zellen aus der Hauptstreckungszone im Polarisationsmikroskop beobachten, daß die Wand zu den Polen hin dünner wurde. Aufnahmen mit dem Elektronenmikroskop bestätigten das: Bei Parenchym- und Epidermiszellen wurde das Geflecht der Fibrillen zu den Polen hin lockerer. MÜHLETHALER schloß aus seinen Beobachtungen, daß sich die Parenchymzellen und die Epidermiszellen der Avena-Koleoptile nicht durch Intussuszeption auf der ganzen Wandfläche vergrößern, sondern nur durch ein bipolares Spitzenwachstum; d. h. die Primärwand wird an beiden Zellenden durch Anbau neuer Fibrillen vergrößert (MÜHLETHALER 1950b). Diese Schlußfolgerungen MÜHLETHALERs wurden vielfach anerkannt (FREY-WYSSLING 1953; FREY-WYSSLING 1955; HAAS 1955), obwohl sie nicht unbestritten blieben (CASTLE 1955; WARDROP 1955, 1956; SCOTT, HAMNER, BAKER und BOWLER 1956).

Wenn MÜHLETHALERs Schlußfolgerungen richtig sind, muß also beim Streckungswachstum die Neueinlagerung von Cellulose vorwiegend an den Polen der Zelle stattfinden. Liegt dagegen aber Mosaikwachstum oder „multi-net-growth" vor, so wird auf der ganzen Wandfläche Cellulose eingelagert.

Es scheint nun angebracht, den Ort der Celluloseeinlagerung direkt zu bestimmen: Führt man der Zelle mit ^{14}C-markierte Glucose zu, so wird diese zum Teil zu Cellulose synthetisiert und in die Zellwand eingebaut. Entfernt man das Plasma und alle anderen nichtcellulosischen Bestandteile durch Maceration mit verdünnten Säuren und Laugen und bedeckt das übrigbleibende Cellulosegerüst der Zellwand mit einer photo-

graphischen Schicht, so wird an den Stellen, wo die mit ^{14}C-markierte Cellulose eingelagert wurde, durch die β-Strahlung eine Schwärzung hervorgerufen.

Aus einer kurzen Mitteilung WARDROPs mit rein qualitativen Ergebnissen geht hervor, daß sich bei Anwendung dieser Methode keine Hinweise für ein Spitzenwachstum ergaben. Es bleibt aber die Frage offen, ob die Celluloseeinlagerung auf der ganzen Wandfläche gleichmäßig erfolgt oder ob es bestimmte Synthesezentren gibt (WARDROP 1956). Zur Lösung des Problems muß die Intensität der Schwärzungen durch geeignete Versuchsbedingungen so vergrößert werden, daß quantitative Auswertungen möglich sind.

Andererseits liegt es nahe, durch geeignete Methoden, wie Aufzucht im Dunkeln und Zufuhr von synthetischem Wuchsstoff, das Streckungswachstum besonders zu fördern, um dadurch die bei der Streckung eintretenden Veränderungen in der Anatomie der Zellwand mit dem Licht- und dem Elektronenmikroskop um so deutlicher beobachten zu können.

B. Material und Methode

I. Anatomie und Anzucht der Avena-Koleoptile, unseres Untersuchungsobjektes

Die Koleoptile besteht aus drei verschiedenen Schichten: äußere Epidermis, innere Epidermis und Parenchym. Die Zellen der äußeren Epidermis erreichen bei einem konstanten mittleren Durchmesser von 25 μ eine maximale Länge von 3000 μ. Die äußere Tangentialwand ist sehr stark verdickt, in schwächerem Maße auch die innere. Die Radialwände bleiben dünn. Die Parenchymzellen erreichen eine maximale Länge von 600 μ bei einem mittleren Durchmesser von 40 μ, die Vertikalwände werden durch längs verlaufende Kantenverstärkungen verdickt (Abb. 11a, 11b, 12b, 13b,). Die Wandflächen zwischen den Kantenverstärkungen sind von Tüpfeln durchbrochen (Abb. 14a, 15). Eine Sekundärwand wird bei den Parenchymzellen der Avena-Koleoptile nicht angelegt. Die Zellen der inneren Epidermis unterscheiden sich von den Parenchymzellen durch größere Länge und durch eine verdickte äußere Tangentialwand. Die beiden Leitbündel bestehen aus Xylem- und Phloemprimanen. Ein aktiver Vegetationskegel an der Spitze der Koleoptile fehlt. An seiner Stelle befinden sich isodiametrische, sehr plasmareiche Zellen. Wenn die Koleoptile das Wachstum fast beendet hat, bricht 2 mm unter der Spitze das sog. Primärblatt durch. Die Zellen an dieser Durchbruchszelle sterben schon vorher ab (AVERY 1930).

Der Hafer (Svalöfs Siegeshafer) wurde zunächst entspelzt, 2 Stunden lang in destilliertem Wasser gequollen und auf feuchtem Fließpapier bei 25° C, ca. 90% Luftfeuchtigkeit und Dunkelheit zur Keimung ausgelegt. Nach 15 bis 35 Stunden (entsprechend den verschiedenen Versuchsbedingungen) wurden die Keimlinge, eingeschlagen in ein Stück Fließpapier (5 × 5 cm), in ein bis zur Hälfte mit destilliertem Wasser gefülltes Glas von 5 cm Höhe und 1,5 cm Weite gebracht.

II. Methoden zur Erhöhung des Streckenwachstums

Während die Avena-Koleoptile am Tageslicht höchstens 20 mm lang wird, erreicht sie im Dunkeln bei einer Temperatur von 25° C und einer Luftfeuchtigkeit von ca. 70% eine maximale Länge von 55 mm.

Durch Zufuhr von synthetischem Wuchsstoff läßt sich das Streckungswachstum erhöhen. Glasröhren von 3 bis 5 mm Weite und 40 mm Länge wurden an einem Ende zu einer Capillare ausgezogen und mit Wuchsstofflösung (β-Indolylessigsäure = IES, Merck reinst, 10^{-5} molar) gefüllt. Nach Verschließen der Capillaröffnung mit Wollfett wurden die Röhren an einem Stativ so angebracht, daß sie in der Höhe verstellt und dann über die Spitzen der Koleoptilen gestülpt werden konnten. So konnte die natürliche Wuchsstoffproduktion in der Koleoptilspitze künstlich verstärkt werden. Die Koleoptilen erreichten eine maximale Länge von 80 mm.

III. Bestimmung des Ortes der Celluloseeinlagerung durch ^{14}C-markierte Hexosen

1. Zuführung des Zuckers

Aus Koleoptilen verschiedener Größe wurden Sektionen von 5 mm Länge 3 bis 5 mm unter der Spitze entnommen. Nach Entfernung des Primärblattes kam jede Sektion in eine Lösung (0,3 cm³ Aqua dest.), die Wuchsstoffe (10 mg/l) sowie Glucose und Fructose (je 0,5 g/l) enthielt. Ein Teil der Glucose und der Fructose war mit künstlich radioaktivem Kohlenstoff markiert. Die Gesamtaktivität der zugesetzten ^{14}C-markierten Zucker betrug je nach den Versuchsbedingungen 5, 10 oder 15 μC. Die radioaktive Substanz wurde über das Isotopenlaboratorium der Med. Forschungsanstalt der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e. V., Göttingen, aus England bezogen. Nähere Bezeichnung der markierten Zucker im Katalog des Radiochemical Centre Amersham: CFB 24, Sugar-C_{14} (G), (mainly invert sugar), Batch 2.

Die Sektionen zeigten gegenüber solchen, die in einer nicht radioaktiven Lösung wuchsen, eine durchschnittliche Wachstumshemmung von 10 bis 15%. Diese Hemmung wurde wahrscheinlich durch Verunreinigungen des Invertzuckers verursacht.

2. Maceration

Die Sektion kam in eine 4 mm lange und 10 mm weite Glasröhre. Das untere, mit einem Glasporenfilter versehene Ende dieser Röhre tauchte in ein mit Wasser gefülltes Überlaufgefäß. Dieses Überlaufgefäß wiederum stand in einem heißen Wasserbad. Das obere Ende der Glasröhre wurde mit einer 60 cm langen Bürette verbunden. Die Macerationsflüssigkeiten liefen dann langsam von der Bürette in die kurze Glasröhre und weiter durch das Filter in das Überlaufgefäß. Durch das heiße Wasserbad herrschte über dem Glasporenfilter eine Temperatur von 90° bis 95° C. Tropfte die Flüssigkeit sehr langsam zu, so konnten mehr als 95° C erreicht werden. Die 50 cm³ fassende Bürette wurde zuerst mit 4%iger Schwefelsäure und dann mit 4%iger Kalilauge gefüllt. Nach dieser Behandlung war die Koleoptile noch nicht in die einzelnen Zellen zerfallen. Durch kräftiges Schütteln mit einer Glaskugel lösten sich dann die Längswände der Zellen vollständig voneinander, während sich die Querwände oft noch nicht trennten. Die durch das Schütteln weitgehend isolierten Zellen wurden dann noch mit 50 cm³ Wasser ausgewaschen. Das Wasser wurde nach Durchlaufen der Zellsuspension in der Glasröhre mit Röntgenfilm auf Radioaktivität geprüft.

3. „Stripping-Film"-Technik

Die Zellsuspension kam auf Objektträger, die vorher mit einem sehr dünnen Chromalaun-Gelatine-Überzug versehen worden waren (lt. Kodakanweisung). Bei manchen Versuchen wurden dann noch die Zellwände mit Benzoazurin (0,2 g auf 100 cm³ Wasser) angefärbt. Sobald das Wasser verdampft war, konnten die Objekt-

träger bei schwachem Grünlicht mit der freitragenden, photographischen Emulsion der „Kodak Autoradiographic Plates" (Kodak Ltd. London) überzogen werden (lt. Kodakanweisung; Gross, Bogoroch, Nadler und Leblond 1951). Nach dem Trocknen der Filmschicht durch einen staubfreien, kalten Luftstrom wurden die Präparate in lichtdichten Kästen bei 15 bis 18° C aufbewahrt. Nach einer Expositionszeit von 6 bis 30 Tagen konnten die „stripping-film"-Präparate entwickelt werden (in Kodak D 19 B). Die Stammlösung wurde im Verhältnis 1:3 mit Aqua dest. verdünnt. Die Entwicklungszeit betrug 8 bis 10 Minuten. Die Expositionszeiten sind z. T. mit Röntgenfilm (Agfa-Super-Spezial-Sicherheitsfilm) bestimmt worden. Röntgenfilm ist etwa 100mal empfindlicher als die feinkörnigere Schicht der „Kodak Autoradiographic Plates". Werden die mit den macerierten Zellen versehenen Objektträger mit Röntgenfilm bedeckt, so zeigen sich daher schon in wenigen Tagen nach der Entwicklung deutliche Schwärzungen, aus dere Intensität die Expositionszeiten für die „stripping-film"-Präparate berechnet werden können.

4. Photometrische Schwärzungsmessung

Es wurden die von den ungefärbten Zellen hervorgerufenen Schwärzungen unter konstanten Bedingungen im Mikroskop photographiert (Zeiss-Opton Mikroskop, Leica-Aufsatz, Leica Ig, Agfa-Agepe-Dokumentenfilm) und die Negative mit einem Bildwerfer (Leitz Prado 250 W, Objektiv: Leitz Hektor, f=8,5 cm, 1:25) an eine weiße Wand geworfen; der Abstand zwischen Bildwerfer und Projektionsfläche war stets gleich. Die Helligkeitsunterschiede auf den Negativen konnten so mit einer an ein Luxmeter angeschlossenen Photozelle (von der Firma AEG) gemessen werden. Der Ausschlag des Luxmeters ist dann ein Maß für die Intensität der Neueinlagerung von Cellulose.

IV. Mikroskopische Untersuchungen

1. Polarisationsoptische Untersuchungen

Es wurde ein Zeiss-Opton Mikroskop, Stativ W, mit einer Zeiss-Opton Polarisationseinrichtung benutzt. Die photographischen Aufnahmen sind mit einer Leica Ig auf Agfa-Agepe-Dokumentenfilm gemacht worden.

a) Fixierung. Maceration. Die für die mikroskopischen Untersuchungen vorgesehenen Koleoptilen wurden zunächst in einer Lösung, die 70% Alkohol, 5% Essigsäure und 25% Wasser enthielt, fixiert und dann nach dem unter III 2 beschriebenen Verfahren maceriert.

b) Färbung mit Benzoazurin, Dichroismus. Die Zellsuspension wurde mit einer Benzoazurin-Lösung (4 g Benzoazurin und 2 g Soda auf 100 cm^3 Aqua dest.) im Verhältnis 1:1 versetzt, auf Objektträger gebracht und mit einem Deckglas bedeckt. Sobald sich das Benzoazurin unmittelbar am Rand ausgeschieden hatte, war die Blaufärbung der Zellwände am intensivsten und die Farblösung selbst nur noch schwach blau.

Die Färbung der Cellulosefibrillen mit Benzoazurin ruft einen starken positiven Dichroismus hervor. Das Zustandekommen dieses Dichroismus ist noch nicht völlig geklärt (Frey 1928; Wuhrmann-Meyer 1939). Wahrscheinlich besitzen die einzelnen Benzoazurin-Moleküle oder -Kristalle schon einen Dichroismus, d. h. der Grad der Absorption des linear polarisierten Lichtes durch das Molekül oder den Kristall hängt von der Einfallsebene des linear polarisierten Lichtes ab. Bei einer bestimmten Einfallsebene wird ein Absorptionsmaximum erreicht, bei einer dazu um 90° gedrehten Ebene ein Minimum. Die Benzoazurin-Teilchen werden nun von den Cellulosefibrillen gerichtet adsorbiert und zwar so, daß die Richtung der stärksten Lichtabsorption mit der Längsachse der Cellulosefibrille zusammenfällt.

Beobachtet man also im Polarisationsmikroskop bei eingeschaltetem Polarisator und ausgeschaltetem Analysator parallel liegende, mit Benzoazurin angefärbte Zellulosefibrillen, so ist die Blaufärbung dann am intensivsten, wenn die Fibrillen in Richtung der Polarisationsebene liegen; die Färbung verschwindet fast ganz, wenn die Fibrillen senkrecht zur Polarisationsebene liegen.

c) Photometrische Bestimmung des mittleren Steigungswinkels der Zellulosefibrillen zur Querachse der Zelle mit Hilfe des Benzoazurin-Dichroismus. Zur Bestimmung des durchschnittlichen Steigungswinkels der Zellulosefibrillen zur Querachse der Zelle wurde folgende Methode entwickelt: Photographiert man unter konstanten Bedingungen bei eingeschaltetem Polarisator und ausgeschaltetem Analysator eine mazerierte, mit Benzoazurin gefärbte Zelle einmal parallel zur Schwingungsebene des linear polarisierten Lichtes und einmal senkrecht dazu, so erhält man zwei Negative, die sich, wie unter III 4 beschrieben, photometrisch ausmessen lassen. Mißt man z. B. auf beiden Negativen die gleiche Lichtintensität, so bedeutet das, daß die Fibrillen der Zellwand in bezug zur Querachse einen *mittleren* Steigungswinkel von 45° haben.

Allgemein gilt folgende Beziehung:

$$\frac{L_1}{L_1 + L_2} = \frac{W_2}{90^0} = \frac{90^0 - W_1}{90^0}$$

L_1 = Luxwert in der Querlage zur Schwingungsebene
L_2 = Luxwert in der Parallellage zur Schwingungsebene
W_1 = Mittlerer Steigungswinkel der Fibrillen zur Querachse
W_2 = Mittlerer Steigungswinkel der Fibrillen zur Längsachse
$W_1 = 90^0 - W_2$.

Aus der obigen Gleichung ergibt sich für W_1, also für den *mittleren* Steigungswinkel der Fibrillen zur Querachse:

$$W_1 = 90^0 \frac{L_2}{L_1 + L_2}.$$

Einige Beispiele:

Beträgt L_1 80 Lux und L_2 20 Lux, so ergibt sich für den mittleren Steigungswinkel der Fibrillen zur Querachse: $W_1 = 18^0$. Beträgt L_1 60 Lux und L_2 35 Lux, so ergibt sich für den mittleren Steigungswinkel zur Querachse: $W_1 = 33^0$.

Von der nach IV, 1b angefärbten Zellsuspension wurden stets 0,2 cm³ auf den Objektträgern mit Deckgläsern vom Format 24 × 40 mm bedeckt. Sobald die Lösung unter dem Deckglas durch das Verdunsten des Wassers und das Auskristallisieren des Farbstoffes am Deckglasrand hellblau geworden war, wurden die Zellen photographiert. Durch das Verdunsten des Wassers werden die macerierten Zellen von dem Deckglas zusammengedrückt; das hat eine scheinbare Vergrößerung des Zelldurchmessers um 15 bis 20% zur Folge. Bei der Bestimmung des wirklichen Zelldurchmessers wurde dieser Fehler korrigiert.

2. Elektronenoptische Untersuchungen

Die Zellen wurden nach der unter III, 2 beschriebenen Methode maceriert und mit quarz-destilliertem Wasser gewaschen.

Die elektronenoptischen Untersuchungen sind im elektronenoptischen Laboratorium des Radiologischen Instituts der Universität Freiburg mit dem Siemens-Übermikroskop 100 d, Baujahr 1953, gemacht worden. Die Objektträger wurden mit einem Kolloidumfilm überzogen, mit einem Tropfen der Zellsuspension versehen und nach dem Eintrocknen mit Wolfram-Oxyd im Vakuum bedampft. Für die photographischen Aufnahmen sind 6 × 9 Perutz-Kontrastplatten, die auf gleiche Platten umkopiert wurden, verwendet worden.

C. Ergebnisse

I. Vorversuch: Messung der Zellgrößen in Koleoptilen verschiedener Länge

Es wurden die Zellausmaße in einer 25 mm langen und in einer 70 mm langen Koleoptile bestimmt. Die kleinere Koleoptile war ohne künstliche Zufuhr von Wuchsstoff 80 Stunden bei 20° C, ca. 90% Luftfeuchtigkeit und Dunkelheit gewachsen, während die größere die Endlänge von 70 mm mit IES (IES 10^{-4} molar, apikal zugeführt) nach 13 Stunden erreicht hatte. Nach der Entfernung der isodiametrischen Zellen an der Koleoptilspitze wurde das Zellgewebe maceriert; dabei tritt eine Schrumpfung der Längsachse um 10% ein (Mühlethaler 1950b). Im Mikroskop konnten die Zellen ohne Anfärbung mit einem Meßocular ausgemessen werden; die scheinbare Verkürzung der Zellen wurde korrigiert. Aus jeder Koleoptile wurden von 600 Parenchymzellen und 200 Epidermiszellen Länge und Durchmesser bestimmt.

Tabelle 1. *Länge der Koleoptile: 25 mm. Maßeinheit μ*

	Zellänge			Zelldurchmesser		
	Mittel	Maximum	Minimum	Mittel	Maximum	Minimum
Parenchym . .	150	310	100	40	70	20
Epidermis . . .	830	1400	520	22	32	16

Tabelle 2. *Länge der Koleoptile: 70 mm. Maßeinheit μ*

	Zellänge			Zelldurchmesser		
	Mittel	Maximum	Minimum	Mittel	Maximum	Minimum
Parenchym	410	740	170	42	65	25
Epidermis	2300	3700	1300	20	25	13

Das Ergebnis ist in den Tabellen 1 und 2 dargestellt. Der Zelldurchmesser ändert sich also nicht wesentlich: Während der mittlere Durchmesser der Parenchymzellen von 40 auf 42 μ ansteigt, nimmt der mittlere Durchmesser der Epidermiszellen um 2 μ ab. Die Koleoptile als Ganzes hat also kein Dicken-, sondern nur ein Längenwachstum. Hervorzuheben ist die große Streckung der Epidermiszellen, die eine optimale Länge von 3700 μ erreichten. Diese Endlänge war nach 130 Stunden erreicht; die Epidermiszelle hatte also eine durchschnittliche Längenzunahme von 28 μ/h. In der Hauptstreckungsphase wird dieser Wert entsprechend höher gewesen sein.

Nach Avery und Burkholder liegt die Hauptstreckungszone bei Koleoptilen von 4 mm Länge an der Basis; sie wandert dann mit zunehmender Größe der Koleoptile weiter nach oben und liegt bei 25 bis 30 mm Länge etwa 10 mm unter der Spitze (Avery und Burkholder 1936). In älteren Koleoptilen liegt diese Zone dann 6 bis 9 mm unterhalb der Koleoptilspitze (Rothert 1894).

II. Bestimmung des Ortes der Celluloseeinlagerung durch ^{14}C-markierte Zucker

Das Optimum der Wachstumsgeschwindigkeit ist bei normalen, im Dunkeln wachsenden Koleoptilen bei einer Länge von 30 mm erreicht.

Um die Celluloseeinlagerung in allen Streckungsstadien zu verfolgen, wurden die Sektionen Koleoptilen von 10, 25 und 38 mm Länge entnommen.

1. Vor der Hauptstreckungsphase

Aus zwei 10 mm langen Koleoptilen wurde je eine 5 mm lange Sektion entnommen.

a) Einlagerung von ^{14}C bei 8stündiger Einwirkung. Die 5 mm lange Sektion erreichte in der Versuchslösung (Aktivität: 15 μC) nach 8 Stunden eine Länge von 8 mm. Die Expositionszeit betrug 30 Tage.

Parenchymzellen. Die Zellen sind durchschnittlich 80 bis 100 μ lang. Sie zeigen auf den Vertikalwänden eine gleichmäßig schwache Schwärzung. Unmittelbar an den Zellenenden ist die Schwärzung vielfach intensiver, da in diesen frühen Wachstumsstadien offenbar auch in die Querwände Cellulose eingelagert wird. Die Intensität der von den Parenchymzellen hervorgerufenen Schwärzungen ist sehr unterschiedlich. Wahrscheinlich haben die Zellen unmittelbar an den Schnittflächen der Sektion schon früher die ^{14}C-markierten Zucker zu Cellulose synthetisiert als die weiter im Inneren liegenden Zellen. Andererseits zeigt sich, daß in der Regel die kleineren Zellen die intensiveren Schwärzungen haben. Offenbar ist also die Celluloseeinlagerung bei kurzen Zellen in diesem Wachstumsstadium der Koleoptile größer als bei langen.

Epidermiszellen. In der Längsachse der Zelle sind keine deutlichen Schwärzungsunterschiede vorhanden, dagegen hebt sich die verdickte Außenwand durch intensive Schwärzungen deutlich ab.

Xylemzellen. Die Zellen sind durchschnittlich 100 bis 250 μ lang. Die eng zusammenliegenden ring- und schraubenförmigen Verdickungen rufen eine intensivere Schwärzung hervor als die Parenchymzellen. Unterschiede im Grad der Schwärzung sind in der Längsachse der Zelle nicht feststellbar; die Celluloseeinlagerung ist also in der Mitte und an den Enden der Zelle gleich stark.

Phloemzellen. Die Schwärzungen sind noch schwächer als bei den Parenchymzellen, aber auch über die ganze Längsachse gleichmäßig verteilt; die Zellenden heben sich nicht ab.

b) Einlagerung von ^{14}C bei 48stündiger Einwirkung. Die 5 mm lange Sektion erreichte in der Versuchslösung (Aktivität 10 μC) nach 48 Stunden eine Länge von 11,5 mm. Die Präparate wurden nach einer Expositionszeit von 28 Tagen entwickelt. Erwartungsgemäß waren die Schwärzungen bedeutend stärker als im vorigen Versuch.

Parenchymzellen. Die Zellen sind durchschnittlich 130 μ lang. Die Vertikalwände sind gleichmäßig schwarz, die Querwände heben sich bei vielen Zellen deutlich ab. Deutliche Schwärzungsunterschiede zwischen kurzen und langen Zellen sind nicht mehr vorhanden.

Kantenverstärkungen, die bei mit Benzoazurin angefärbten Zellen so deutlich sind, treten nicht hervor.

Epidermiszellen. In der Längsachse treten keine Unterschiede im Schwärzungsgrad auf, selbst die spitz auslaufenden Zellenden heben sich nicht ab; die verdickte Außenwand hat intensivere Schwärzungen hervorgerufen (Abb. 4).

Xylemzellen. Hier ist die Celluloseeinlagerung in frühen Wachstumsstadien besonders intensiv (Abb. 5); bestimmte Regionen der Zelle werden beim Einbau der Cellulose nicht bevorzugt. Erst bei den Zellen von ca. 500 μ Länge lassen sich schwache Schwärzungsunterschiede beobachten: Die Intensität der Schwärzung nimmt von einem zum anderen Ende hin zu. In dem Zellende, das schwächere Schwärzungen hervorgerufen hat (Abb. 6), sind die Ring- und Schraubenverdickungen schon weiter voneinander entfernt; in dem anderen Ende liegen die Verdickungen noch dichter zusammen.

Phloemzellen. Die Phloemzellen zeigen größere Schwärzungsunterschiede auf ihrer Wandfläche (Abb. 8). Die Stellen mit den stärkeren Schwärzungen jedoch sind in der Längsachse unregelmäßig verteilt.

2. In der Hauptstreckungsphase

Aus einer Koleoptile von 25 mm Länge, die also kurz vor der Hauptstreckungsphase steht, wurde eine 5 mm lange Sektion entnommen. Die Sektion wurde in der Versuchslösung, die eine Aktivität von 10 μC enthielt, innerhalb von 48 Stunden 10,5 mm lang. Nach Tabelle 1 beträgt die mittlere Länge der Parenchymzellen einer 25 mm langen Koleoptile 150 μ. Da die unmittelbar an den Sektionsgrenzen liegenden Zellen langsamer wachsen, haben sich die übrigen Zellen um mehr als 100% in der Versuchslösung verlängert. Die „stripping-film"-Präparate wurden nach 20 Tagen entwickelt. Die Schwärzungen sind allgemein intensiver als in den vorigen Versuchen.

Parenchymzellen. Die Schwärzungen von ca. 100 Zellen (200 bis 400 μ lang) wurden photometrisch gemessen, und zwar an 5 verschiedenen Stellen jeder Zelle: in der Mitte unmittelbar an beiden Zellenden und im ersten Viertel unterhalb der Zellenden. Der Abstand zwischen Projektor und Wandfläche war so gewählt worden, daß der Durchmesser des runden Fensters der Photozelle etwa 70% des mittleren Zelldurchmessers betrug. Die Mittelwerte dieser Messungen sind in Abb. 1 dargestellt. Eine schematische Umrißzeichnung einer Parenchymzelle mit den 5 verschiedenen Meßflächen ist die Abszisse. Die Ordinate gibt die Intensität der Schwärzung an: Der in Lux gemessene mittlere Schwärzungswert in der Zellmitte wurde gleich 100 gesetzt, und darauf sind dann die Schwärzungswerte an den 4 anderen Stellen auf der Zellwand bezogen worden.

Die Schwärzungen sind also im Durchschnitt auf dem größten Teil der Wandflächen gleichmäßig stark, sie nehmen nur unmittelbar an den Zellenden zu. Hier ist die Celluloseschicht durch die meist in Falten liegende Querwand dicker (Abb. 12b). Auf der einzelnen Zelle können geringere Schwärzungsunterschiede in der Längsachse vorkommen. Bei ca. 20% der Zellen konnten auf der Wandfläche in der Querachse Schwärzungsunterschiede beobachtet werden: Bei diesen Zellen ist also die Celluloseeinlagerung in den Kantenverstärkungen intensiver als in den von Tüpfeln durchbrochenen Wandflächen zwischen den Kantenverdickungen. Die Kantenverstärkungen heben sich aber durch die Schwärzungen nicht so deutlich ab wie bei den macerierten, mit Benzoazurin gefärbten Zellen, von denen mehr als 90% in mittleren und frühen Streckungsstadien stark blau gefärbte Längsstreifen zeigen (Abb. 11a, 11b). Bei etwa 30% der Zellen wird keine Cellulose in die Querwände eingelagert.

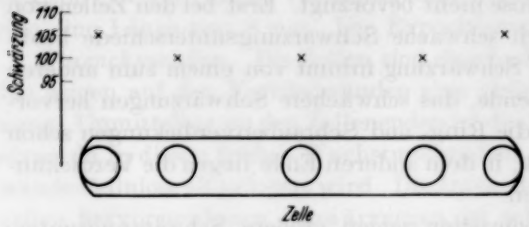


Abb. 1. Photometrische Messungen der Schwärzungsunterschiede auf der Zellwand von Parenchymzellen. Einwirkung der ^{14}C-markierten Hexosen in der Hauptstreckungsphase

Diese photometrischen Messungen wurden nur an Parenchymzellen gemacht.

Epidermiszellen. Die Epidermiszellen erreichten eine durchschnittliche Länge von 1500 bis 2000 μ. Sie zeigen in der Längsachse eine völlig gleichmäßige Verteilung der Schwärzungen. Die Außenwand hat wieder intensivere Schwärzungen hervorgerufen. Bei manchen Zellen hebt sich auch die schwächer verdickte innere Tangentialwand von den Radialwänden durch eine deutlich stärkere Schwärzung ab.

Xylemzellen. Die Ringverstärkungen rücken weiter auseinander und der Steigerungswinkel der Schraubenleisten wird größer. In die Verstärkungen wird immer noch Cellulose eingelagert (Abb. 7). Die dünnen Zellwände sind vielfach durch die Maceration zerrissen worden, so daß die stabilen Verdickungen frei wurden (Abb. 7).

Phloemzellen. Es sind wieder größere, unregelmäßig verteilte Schwärzungsunterschiede vorhanden. Die Intensität der Schwärzungen ist allgemein etwas geringer als bei den Parenchym- und Epidermiszellen; der Unterschied zu den Xylemzellen ist besonders groß. Dadurch können auch beide Zellarten immer leicht voneinander unterschieden werden.

3. Nach der Hauptstreckungsphase

Aus einer Koleoptile von 38 mm Länge, die also das Zuwachsoptimum gerade überschritten hat, wurde eine 5 mm lange Sektion entnommen.

Die Versuchslösung enthielt radioaktiven Zucker mit einer Aktivität von 10 μC. Die Schwärzungen sind trotz der kurzen Expositionszeit von 8 Tagen genau so stark wie in IIa und b.

Parenchymzellen. Die Schwärzungen auf 150 Zellen von 250 bis 450 μ Länge wurden photometrisch gemessen. Das Ergebnis ist in Abb. 2 nach dem im vorigen Kapitel beschriebenen Verfahren graphisch dargestellt.

Die Schwärzung ist also auf den Vertikalwänden durchschnittlich gleich stark und nimmt unmittelbar am Zellende wieder zu (Abb. 3). Diese Zunahme ist etwas stärker als in Abb. 1; es wird also gegen Ende des Streckungswachstums mehr Cellulose in die Querwände eingelagert.

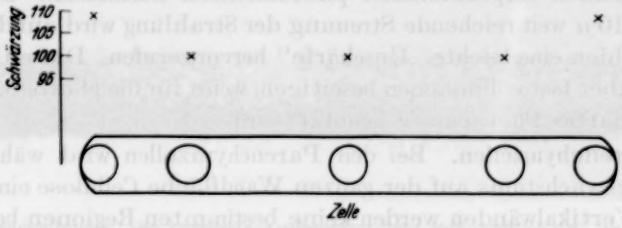


Abb. 2. Photometrische Messungen der Schwärzungsunterschiede auf der Zellwand von Parenchymzellen. Einwirkung der ^{14}C-markierten Hexosen nach der Hauptstreckungsphase

Die Schwankungen im Grad der Schwärzung sind zwischen den einzelnen Zellen größer als in der Hauptstreckungsphase. Darum wurden auch 150 Zellen photometrisch ausgemessen. Manche Zellen haben das Wachstum schon völlig eingestellt. Sie sind durch Schwärzungen nicht mehr zu erkennen. Die Zellwand leuchtet jedoch im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Nicols durch die Doppelbrechung der Cellulose hell auf. Die benachbarten Zellen bauen besonders viel Cellulose in die Querwände ein. Die Kantenverstärkungen sind nicht mehr zu erkennen; dagegen verlaufen häufiger in der Querachse in wechselnden Abständen Zonen mit intensiven Schwärzungen.

Epidermiszellen. Die Neueinlagerung von Cellulose in den Radialwänden und in der inneren Tangentialwand ist noch gleichmäßig. Dagegen zeigt die Außenwand auf der ganzen Länge regelmäßig in Abständen von 15 bis 25 μ Schwärzungsunterschiede. Mit Benzoazurin angefärbte Epidermiszellen gleicher Länge lassen entsprechende Unterschiede in der Anfärbung der äußeren Tangentialwand erkennen. Gegen Ende des Streckungswachstums wird also in dieser Wand die Cellulose nicht mehr gleichmäßig eingelagert.

Xylemzellen. Es wird nur noch in die dünnen Zellwände Cellulose eingebaut. Die weit auseinandergerückten Verstärkungsleisten sind nur schwer durch Schwärzungen erkennbar; sie können jedoch durch das starke Aufleuchten im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Nicols sichtbar gemacht werden.

Phloemzellen. Die Schwärzungen sind immer schwächer als bei den Parenchymzellen. Stellen, die bei der Einlagerung von Cellulose bevorzugt werden, sind über die ganze Länge verteilt.

4. Zusammenfassung

Die in der Versuchslösung vorhandenen ^{14}C-markierten Zucker werden von Zellen der Koleoptile aufgenommen, zu Cellulose synthetisiert und in die Zellwand eingebaut. Sektionen aus kurzen Koleoptilen synthetisieren weniger Cellulose aus den künstlich zugeführten Hexosen als Sektionen aus längeren Koleoptilen. Die von der β-Strahlung hervorgerufenen Schwärzungen auf dem „stripping-film" lassen sich nach einer entsprechenden Expositionszeit photometrisch ausmessen. Durch die maximal 10 μ weit reichende Streuung der Strahlung wird auf den Autoradiographien eine leichte „Unschärfe" hervorgerufen. Diese Unschärfe läßt sich aber fast vollkommen beseitigen, wenn für die photographischen Positive hartes Photopapier benutzt wird.

a) Parenchymzellen. Bei den Parenchymzellen wird während des Streckungswachstums auf der ganzen Wandfläche Cellulose eingelagert. Auf den Vertikalwänden werden keine bestimmten Regionen bevorzugt. Kantenverstärkungen heben sich nur selten ab, in der letzten Phase des Streckungswachstums überhaupt nicht mehr. Tüpfel sind nicht direkt erkennbar, da sie durch die Streustrahlung verdeckt werden. Die Celluloseeinlagerung in die Querwände ist in der Hauptstreckungsphase sehr gering und vor Abschluß der Zellstreckung intensiver.

b) Epidermiszellen. Die Epidermiszellen lagern während der Streckung ebenfalls auf der ganzen Wandfläche Cellulose ein. Die stark verdickte Außenwand ruft besonders intensive Schwärzungen hervor, oft hebt sich auch die innere Tangentialwand von den dünnen Radialwänden durch stärkere Schwärzung ab. In der Längsachse werden während des Streckungswachstums keine bestimmten Stellen bei der Celluloseeinlagerung bevorzugt. Nur kurz vor dem Erreichen der maximalen Länge zeigen sich in der Außenwand häufig Schwärzungsunterschiede in Abständen von 13 bis 25 μ.

c) Xylemzellen. Die Xylemzellen lagern besonders in die Verstärkungsleisten Cellulose ein. In frühen Wachstumsstadien lassen sich keine Schwärzungsunterschiede feststellen; die ring- und schraubenförmigen Verdickungen in der Mitte der Zelle und die an den Enden lagern also gleich viel Cellulose ein. Etwa 50% der Zellen zeigen, wenn sie eine Länge von ca. 500 μ erreicht haben, stetige Schwärzungsänderungen von einem Ende zum anderen. In dem Maße, wie die Ringe und Schraubenwindungen auseinanderrücken, hört dann auch allmählich die Celluloseeinlagerung in diese Verstärkungsleisten auf. Schließlich wird nur noch Cellulose in die dünnen Wände eingebaut.

Abb. 3. Parenchymzelle. Einwirkung der ^{14}C-markierten Hexosen nach der Hauptstreckungsphase. Auf der Längswand geringe Schwärzungsunterschiede. Die Querwände heben sich durch stärkere Schwärzungen deutlich ab. Vergr.: 320:1

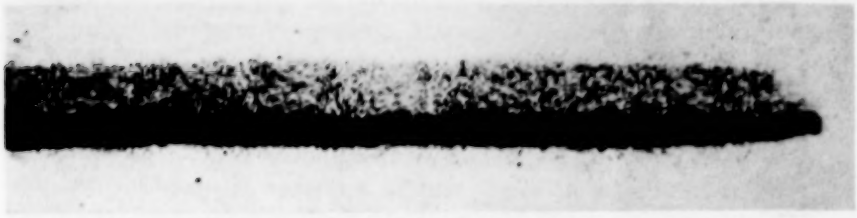


Abb. 4. Epidermiszelle. Die verdickte Außenwand hebt sich deutlich ab. In der Längsachse keine Schwärzungsunterschiede. Vergr.: 380:1

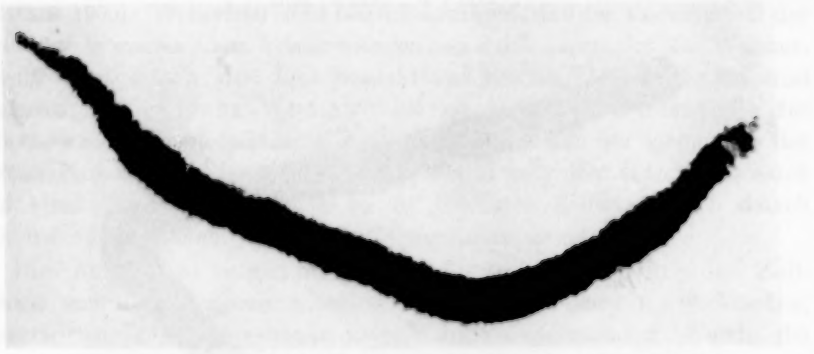


Abb. 5. Xylemzelle. Frühes Wachstumsstadium. Gleichmäßige intensive Schwärzungen auf der ganzen Wandfläche. Vergr.: 325:1

Abb. 6. Xylemzelle. Mittleres Wachstumsstadium. Intensität der Schwärzung nimmt zum Ende hin schwach ab. Vergr.: 520:1

d) Phloemzellen. Die Phloemzellen lagern allgemein etwas weniger Cellulose ein als die Parenchymzellen. Schon in frühen Wachstums-

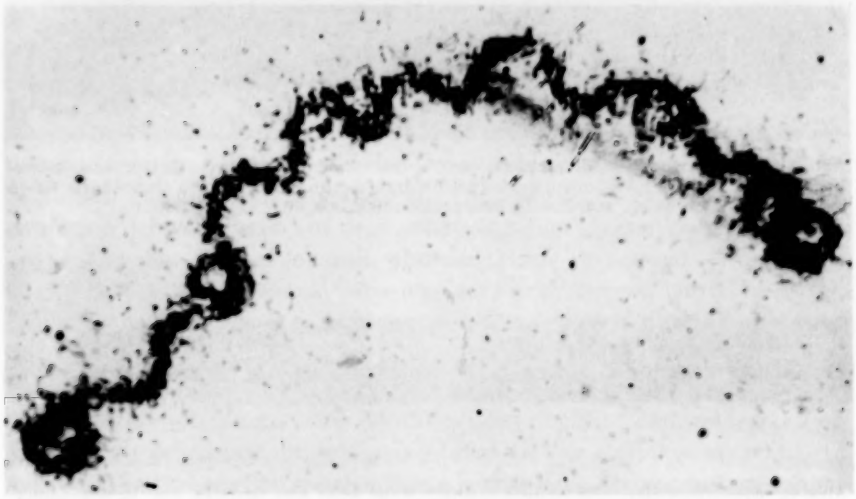


Abb. 7. Xylemzelle. Spätes Wachstumsstadium. Die dünne Zellwand ist durch die Maceration zerrissen. Die Spiralverdickungen liegen frei; sie heben sich durch Schwärzungen deutlich ab. Vergr.: 580:1

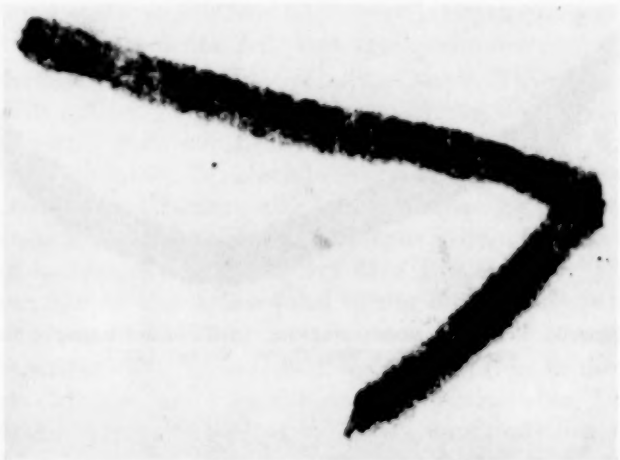


Abb. 8. Phloemzelle. Größere unregelmäßig verteilte Schwärzungsunterschiede auf der ganzen Zellwand. Vergr.: 220:1

stadien zeigen sich Stellen mit starken Schwärzungen, die aber unregelmäßig in der Längsachse verteilt sind. Die Spitzen der Zellen werden beim Einbau von Cellulose während der ganzen Wachstumsphase nicht bevorzugt.

III. Polarisations- und elektronenoptische Untersuchungen

1. Vorbemerkung zur Deutung der Abbildungen

Bei den polarisationsoptischen Aufnahmen ist die Lage der Schwingungsebene (SE) des linear polarisierten Lichtes immer in der dazugehörigen Legende angegeben. Die mit a und b bezeichneten Abbildungen zeigen jeweils dieselben Zellen einmal parallel und einmal senkrecht zur Polarisationsebene.

Um vergleichbare Aufnahmen zu erhalten, waren folgende Aufnahmebedingungen jeweils gleich: Beleuchtungsstärke und Blenden im Mikroskop, Empfindlichkeit des Filmmaterials, Belichtungszeit, Konzentration und Temperatur des Entwicklers, Entwicklungszeit, Blende und Belichtungszeit beim Vergrößern, Härtegrad des Photopapiers und Entwicklungsdauer.

Im Elektronenmikroskop sind die Cellulosefibrillen selbst sichtbar; sie haben einen Durchmesser von 100 bis 120 Å. Im Querschnitt einer Fibrille liegen etwa 2000 Cellulose-Moleküle (FREY-WYSSLING 1951). Das Fibrillengeflecht erscheint dichter als es in der lebenden Zelle ist, da die Parenchymzellen durch die chemische Behandlung und besonders durch das Eintrocknen auf den Objektträgern insgesamt um 30% schrumpfen. In der Querrichtung tritt keine Verkürzung ein (MÜHLETHALER 1950). Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß der Volumanteil der Cellulose in wachsenden Primärwänden nur 2,5% ausmacht. Der Wassergehalt beträgt 92%, der Rest besteht aus Pektin, Hemicellulosen und anderen Stoffen (FREY-WYSSLING 1951a). Diese Berechnung gilt für Primärwände meristematischer Zellen. Beim Aufbau der Zellwände der Avena-Koleoptile dürfte der Anteil der Cellulose größer sein. Aber auch hier sind die Cellulosefibrillen in der lebenden Zellwand noch durch Plasma und begleitende Wandstoffe voneinander getrennt.

Die Aufnahmen zeigen in der Regel immer Ausschnitte der Zellwände von nicht zerrissenen Zellen. Es liegen bei den eingetrockneten, macerierten Zellen also immer zwei Wände übereinander. Wurde die Koleoptile vor der Maceration mehrmals mit einer Rasierklinge aufgespalten, so konnten auch nicht doppelt liegende Wandflächen von aufgeklappten Zellen im Elektronenmikroskop und im Polarisationsmikroskop photographiert werden.

2. Die Umorientierung der Cellulosefibrillen beim Streckungswachstum

a) Parenchymzellen. *Quantitative polarisationsoptische Untersuchungen:* Nach der bereits beschriebenen Methode wurden insgesamt 1800 Zellen verschiedener Größe aus 1 bis 75 mm langen Koleoptilen ausgemessen. Die 75 mm lange Koleoptile hatte diese Länge durch Zufuhr von synthetischem Wuchsstoff erreicht. Alle anderen Koleoptilen waren ohne

synthetischen Wuchsstoff gewachsen. Das Ergebnis dieser Messungen ist in Abb. 9 graphisch dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zellänge in μ angegeben, auf der Ordinate der mittlere Steigungswinkel der Cellulose-

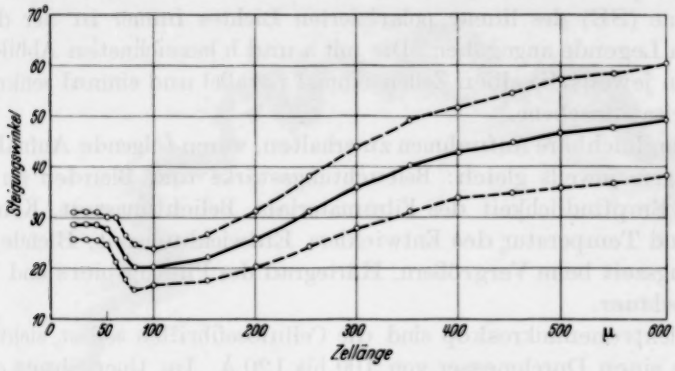


Abb. 9. Der mittlere Steigungswinkel der Cellulosefibrillen von Parenchymzellen in Abhängigkeit von der Zellänge

fibrillen zur Querachse der Zelle. Für jeden Punkt der Kurve wurden ca. 100, mindestens aber 80 Zellen ausgemessen. Die obere und die untere gestrichelte Kurve geben die mittlere Abweichung von den Mittelwerten der Messungen an.

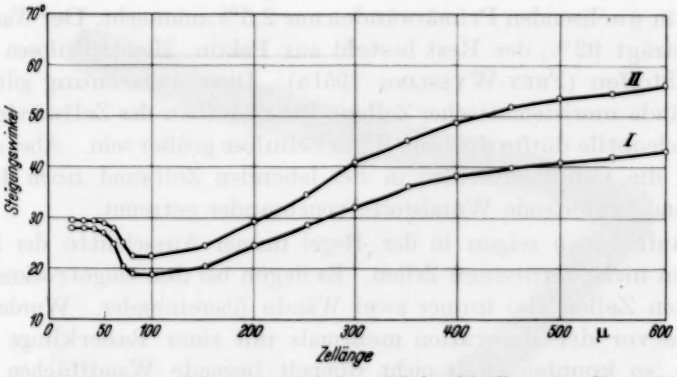


Abb. 10. Der mittlere Steigungswinkel der Cellulosefibrillen von Parenchymzellen in Abhängigkeit von der Zellänge und dem Zelldurchmesser (vgl. S. 478)

Bei einer Zellänge von 20 bis 50 μ (Abb. 11a, 11b) ist der mittlere Steigungswinkel 29° groß, er wird dann schnell kleiner bis zu 21° bei einer Zellänge von 80 bis 100 μ (Abb. 12a und 12b). Dann wird der Winkel mit zunehmender Zellänge stetig größer, bei 450 μ sind 45° erreicht (Abb. 13a und 13b). Beim Streckungswachstum werden die Fibrillen also, sobald die Zelle eine Länge von 80 bis 100 μ überschritten hat, mehr und mehr in die Längsachse der Zelle umorientiert. Die mittlere Abweichung nimmt auch ständig zu, ist aber vorher schon beim raschen Absinken des Steigungswinkels von 28° auf 21° einmal größer gewesen.

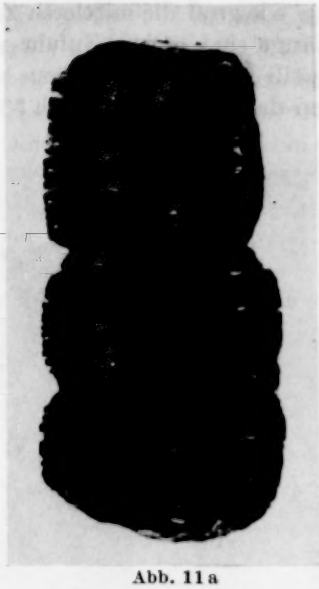


Abb. 11a

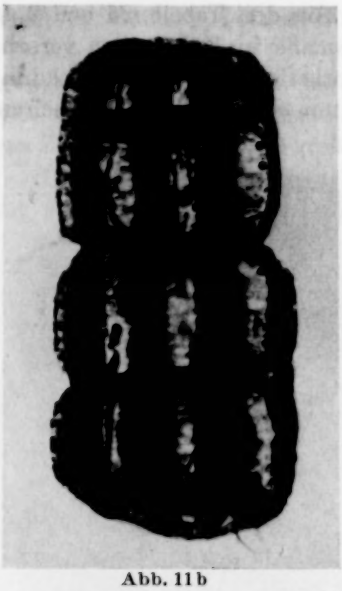


Abb. 11b

Abb. 11a u. b. 4 Parenchymzellen, ca. 20 bis 50 μ lang. SE quer (11a) und parallel (11b) zur Längsachse der Zellen. Aufnahme 11a dunkler, also liegen die Cellulosefibrillen mehr in der Querachse als in der Längsachse der Zellen

Abb. 12a u. b. Parenchymzelle, ca. 80 μ lang. SE quer (12a) und parallel (12b) zur Längsachse der Zelle. Aufnahme 12a deutlich dunkler, also liegen die Fibrillen vorwiegend in der Querachse

Abb. 13a u. b. Parenchymzelle, ca. 550 μ lang. SE quer (13a) und parallel (13b) zur Längsachse der Zelle. Aufnahme 13b deutlich dunkler, also liegen die Fibrillen vorwiegend in der Längsachse

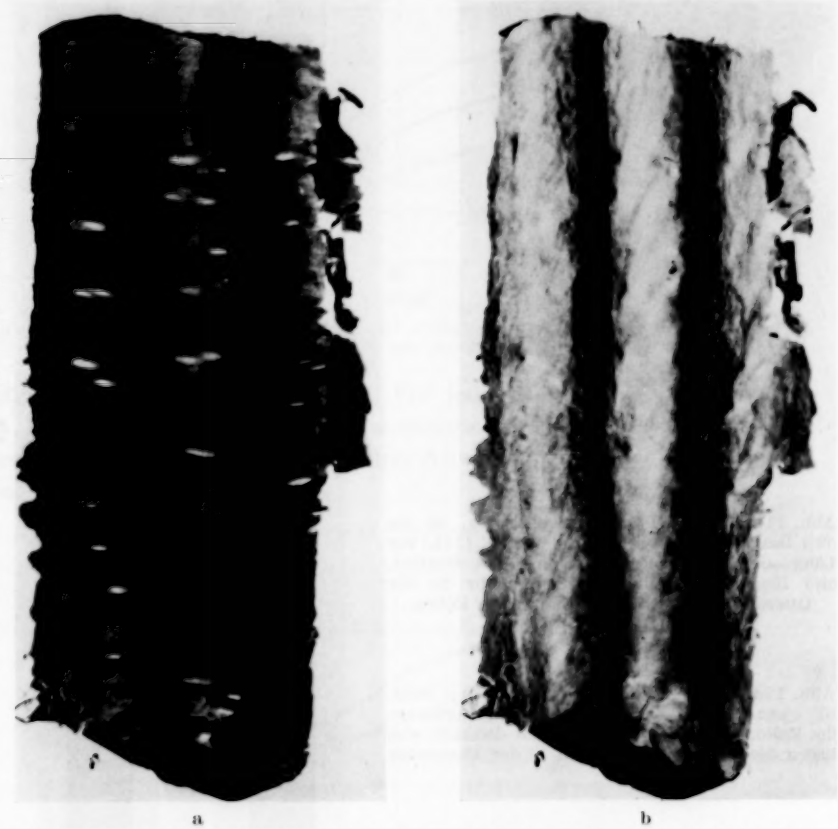
Abb. 12a

Abb. 12b

Abb. 13a

Abb. 13b

Aus den Tabellen 1 und 2 geht hervor, wie groß die mittleren Zellausmaße in Koleoptilen verschiedener Länge sind. Ohne Zufuhr von synthetischem Wuchsstoff kann die Koleptile eine optimale Länge von 55 mm erreichen; die Parenchymzellen sind dann durchschnittlich 330 μ



a b

Abb. 14a u. b. Wandstück einer ca. 200 μ langen Parenchymzelle. SE quer (14a) und parallel (14b) zur Längsachse der Zelle. In den Kantenverstärkungen Längsfibrillen (14b). Zwischen den Kantenverstärkungen Tüpfelfelder mit Querfibrillen (14a)

lang. Der mittlere Steigungswinkel in den Wänden dieser Zelle ist in diesem Stadium also etwas kleiner als 40°.

Die Umlagerung der Fibrillen ist bei Zellen mit kleinem Durchmesser (Abb. 13a und 13b) intensiver als bei solchen mit großem Durchmesser. Dieser Effekt wird mit zunehmender Zellänge deutlicher, und daher nimmt auch die mittlere Abweichung stetig zu.

In Abb. 10 ist die Abhängigkeit der Fibrilleneinlagerungsrichtung von der Zellänge und dem Zelldurchmesser graphisch dargestellt. Kurve I gibt die Werte für Zellen mit einem Durchmesser größer als

40 μ an, Kurve II die entsprechenden Werte für Zellen mit einem Durchmesser kleiner als 40 μ.

Die Abhängigkeit des mittleren Steigungswinkels vom Zelldurchmesser nimmt mit der Zellänge zu: Beträgt der Unterschied bei 40 μ langen Zellen nicht einmal 2°, so ist er bei 800 μ langen Zellen schließlich 13° groß.

Elektronenoptische Untersuchungen: Die indirekten polarisationsoptischen Ergebnisse über die Richtung der Fibrillen lassen sich elektronenoptisch direkt bestätigen: Bei den meristematischen Zellen laufen die Fibrillen kreuz und quer durcheinander, bevorzugen aber noch die Querrichtung (Abb. 16). Nur an den Kanten der Zelle liegen Fibrillen in der Längsrichtung. Diese Schicht ist aber noch dünn: Das darunter liegende netzartige Fibrillengeflecht läßt sich erkennen (Abb. 16). Die Ausrichtung in der Querachse wird dann strenger, wenn die Zelle sich in der Querachse vergrößert. Gleichzeitig wird auch die Schicht der Längsfibrillen an den Kanten dichter (Abb. 17). Bei einer Zellänge von ca. 100 μ erreicht die Querorientierung ein Maximum (Abb. 18). Mit zunehmender Zellänge findet dann aber eine von den Kantenverstärkungen ausgehende Umlagerung der Fibrillen in die Längsachse der Zelle statt (Abb. 19, 20, 21).

Abb. 15. Wandstück einer ca. 600 μ langen Parenchymzelle. Aufnahme ohne Polarisator. Tüpfel rund

b) Epidermiszellen. Die Zellen der äußeren Epidermis haben eine sehr stark verdickte Außenwand. Die innere Tangentialwand ist auch verstärkt, aber schwächer. Die Radialwände sind dünn. Vor Beginn des eigentlichen Streckungswachstums liegen die Fibrillen in allen Wänden vorwiegend quer, besonders in den Radialwänden, die von zahlreichen Tüpfeln durchbrochen werden. Aus Tabelle 1 und 2 geht hervor, daß die Epidermiszellen in einer 55 mm langen Koleoptile eine durchschnittliche Länge von 1800 μ haben. Es zeigt sich bei einer solchen Zelle, daß

die Fibrillen in den Radialwänden während des Streckungswachstums in der Querlage geblieben sind, nur die Tüpfel rückten weiter auseinander. Die Zahl der Tüpfel wird bei der Streckung nicht vermehrt. Der Steigungswinkel der Fibrillen in der inneren Tangentialwand ist dagegen größer geworden. Die schon vor der Streckung vorhandenen ovalen Tüpfel rücken auseinander und werden rund. Die Fibrillen in der äußeren Tangentialwand werden ebenfalls umorientiert. Die dicke Celluloseschicht färbt sich durch Benzoazurin sehr stark an, so daß die Helligkeitsunterschiede in den verschiedenen Lagen zur Schwingungsebene des polarisierten Lichtes durch das Photopapier nicht mehr wiedergegeben werden können. Im Polarisationsmikroskop ist jedoch bei den verschiedenen Lagen der Zelle zur Schwingungsebene ein deutlicher Helligkeitsunterschied zu beobachten: Liegt die Zelle quer zur Schwingungsebene, so ist die Außenwand intensiv blau; liegt die Zelle parallel zur Schwingungsebene, so ist die Außenwand blau-schwarz. Da die Blaufärbung in der Querlage der Zelle zur Schwingungsebene beim Streckungswachstum intensiv bleibt, muß also auch noch ein großer Prozentsatz der Fibrillen der dicken äußeren Tangentialwand in der Querachse der Zelle liegen. Im Elektronenmikroskop ist dann zu erkennen, daß die Fibrillen in der äußeren Schicht dieser Wand streng längs liegen, besonders zu den Radialwänden hin. Würden auch die weiter zum Zellinneren hin liegenden Fibrillen zur Längsachse der Zelle parallel laufen, dann dürfte die Blaufärbung in der Querlage zur Schwingungsebene im Polarisationsmikroskop nicht so intensiv sein. Es müssen also die Fibrillen der inneren Schichten der äußeren Tangentialwand beim Streckungswachstum vorwiegend in der Querlage bleiben.

c) **Phloemzellen.** Die Wände sind von zahlreichen Tüpfeln durchbrochen. Bei manchen Zellen sind den Kantenverstärkungen der Parenchymzellen ähnliche Längsstreifen schwach zu erkennen. Bei einer Länge von 100 bis 150 μ ist der mittlere Steigungswinkel der Fibrillen ca. 30° groß; dieser Winkel kann dann bei Zellen von 500 μ Länge 45° erreichen. Die Umlagerung ist also nicht so intensiv wie bei den Parenchymzellen.

3. Veränderungen in Form und Anordnung der Parenchymtüpfel beim Streckungswachstum

Die Wandstruktur kann sowohl im Lichtmikroskop durch Benzoazurin-Färbung und Ausnutzung des Dichroismus nach Einschalten des Polarisators als auch im Elektronenmikroskop beobachtet werden. Beide Methoden ergänzen einander: Während im Elektronenmikroskop besonders die Feinstruktur der Tüpfel beobachtet werden kann, läßt sich licht- bzw. polarisationsoptisch deren Anordnung in der Zellwand besser feststellen.

Die kleinsten Zellen haben einen Durchmesser von 20 μ und sind vielkantig. Die flachen Zellflächen werden von runden Tüpfeln durchbrochen (Abb. 16). Zu den Intercellularräumen hin sind die Zellen abgerundet und bilden Kantenverstärkungen aus: Das netzartige Fibrillengeflecht wird hier zunächst dichter, vielfach laufen dann die äußeren Fibrillen in der Längsachse der Zelle (Abb. 16). Mit zunehmender Zelllänge werden die Kantenverstärkungen deutlicher; jede Zelle hat in der Regel 6 Kanten. Die Verdickungen an den Kanten trennen die Tüpfel in 6 vertikale Reihen. Durch die Vergrößerung der Zelle in der Querachse werden die anfangs runden oder ovalen Tüpfel lang und schmal; zwischen ihnen liegen schmale, aber dicke Fibrillenstränge. Zu Beginn des eigentlichen Längenwachstums rücken die Tüpfel weiter auseinander; die dazwischenliegenden Fibrillenstränge breiten sich aus und werden flacher (Abb. 17). Die Kanten haben jetzt immer in den äußeren Schichten Längsfibrillen, die sich von dem Quergeflecht der Tüpfelfelder deutlich abheben. Durch die stetige Einlagerung von querorientierten Fibrillen rücken die Tüpfel weiter auseinander (Abb. 15 und 18). Sie werden von Querfibrillen durchzogen. Ovale Poren bleiben zum Durchtritt der Plasmodesmen frei. Die Kantenverstärkungen sind polarisationsoptisch in beiden Stellungen zur Schwingungsebene erkennbar (Abb. 14a und 14b), die Fibrillen liegen aber vorwiegend längs (Abb. 14b). Von den Kanten her beginnt nun die Umorientierung der Fibrillen, und zwar ändern zuerst die Fibrillen der äußeren Wandschicht ihre Einlagerungsrichtung (Abb. 19). Die Tüpfel werden jetzt durch quer verlaufende dickere Fibrillenstränge durchtrennt. Im Polarisationsmikroskop können diese Fibrillenbündel bei stärkster Vergrößerung und intensiver Anfärbung mit Benzoazurin ebenfalls sichtbar gemacht werden. Ziegenspeck beschreibt ähnliche Fibrillenstränge in den Tüpfeln von Zellen aus der Wurzel von Vicia faba (Ziegenspeck 1953). Diese Fibrillenstränge verzweigen sich teilweise, füllen das ganze Tüpfelfeld als loses Netzwerk aus und lassen nur kleine scharf abgegrenzte Poren für die Plasmodesmen frei (Abb. 20). Mit zunehmender Verlängerung der Zelle werden die Tüpfel immer mehr durch Längsfibrillen eingeengt (Abb. 20). Die elliptischen Tüpfel werden allmählich rund (Abb. 15 und 21). Diese Formänderung ist besonders bei Tüpfeln deutlich, die in der Nähe von Kantenverstärkungen liegen. Anfangs sind unter den Längsfibrillen der äußersten Wandschicht noch die Querfibrillen zu erkennen. Wird die Zelle besonders lang und hat sie einen kleinen Durchmesser, so greift die Umorientierung auch auf die weiter unten liegenden Schichten über (Abb. 21). Die Kantenverstärkungen heben sich nicht mehr deutlich ab. Auch die runden Tüpfel haben die scharf abgegrenzten Poren.

Die Querwände bestehen aus einem lockeren Fibrillengeflecht (Abb. 22), das vielfach die Zellen direkt miteinander verbindet. Die

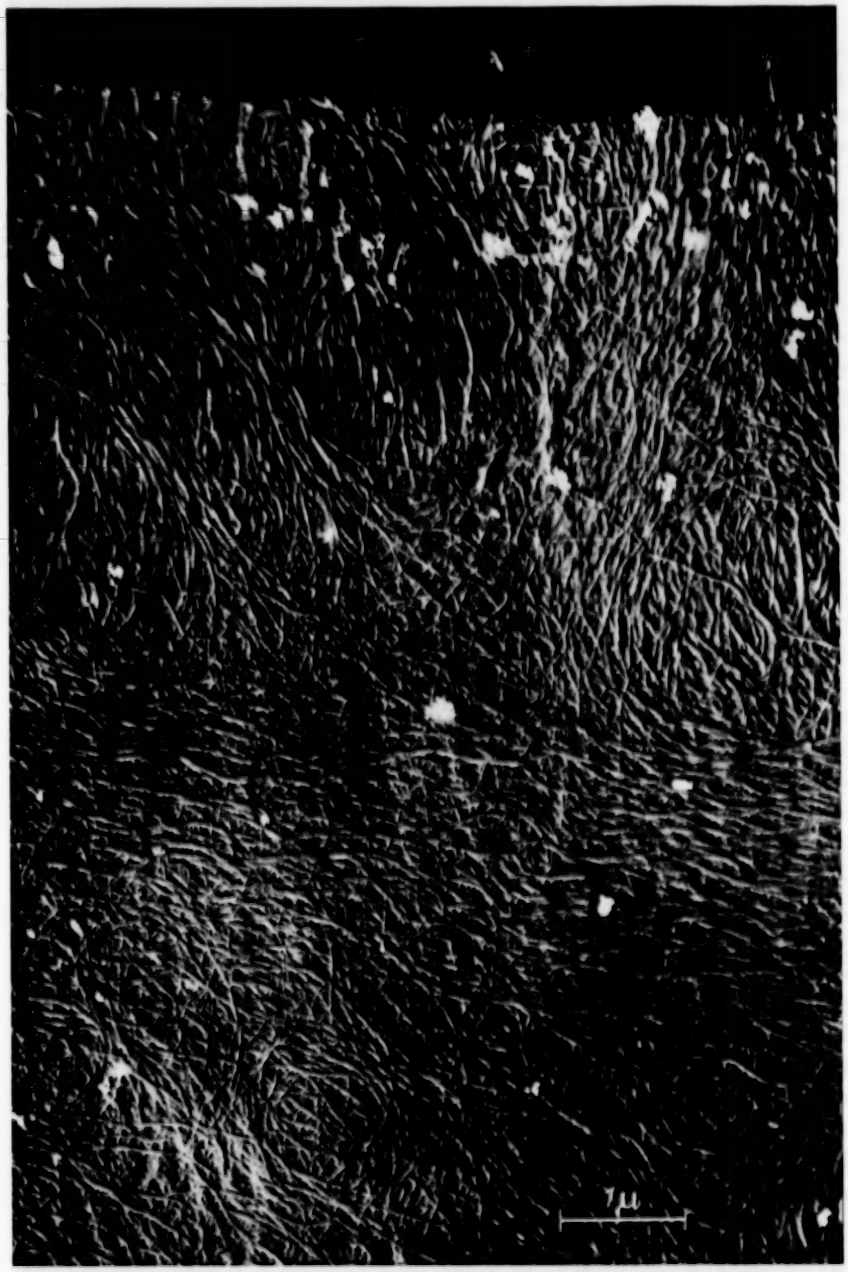


Abb. 16. Meristematische Parenchymzelle, 20 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Oben Tüpfelfeld mit Querfibrillen. In der Mitte Anfänge einer Kantenverstärkung. Vergr.: 16 500:1

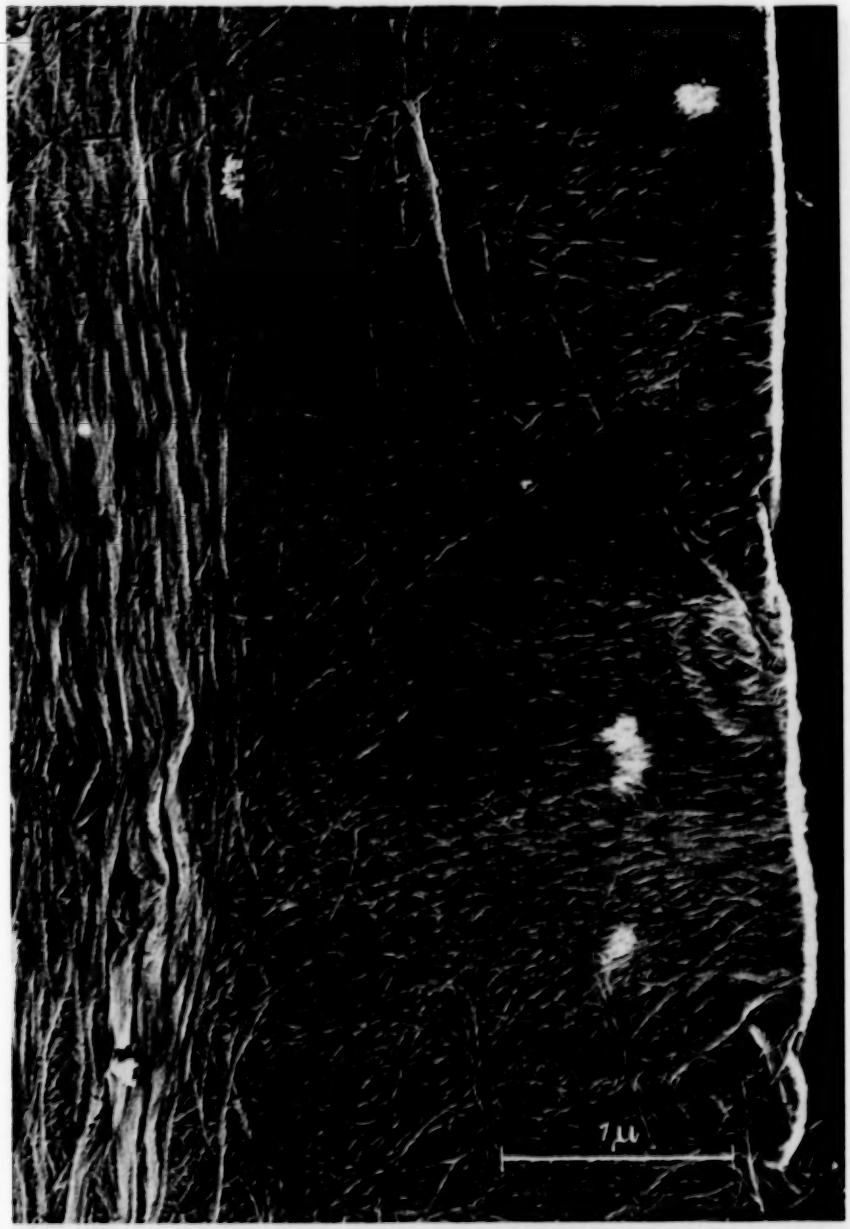


Abb. 17. Parenchymzelle, ca. 120 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Links Kantenverstärkung mit Längsfibrillen, rechts Tüpfelfeld, Tüpfel durch Querfibrillen voneinander getrennt. Vergr.: 29 000:1

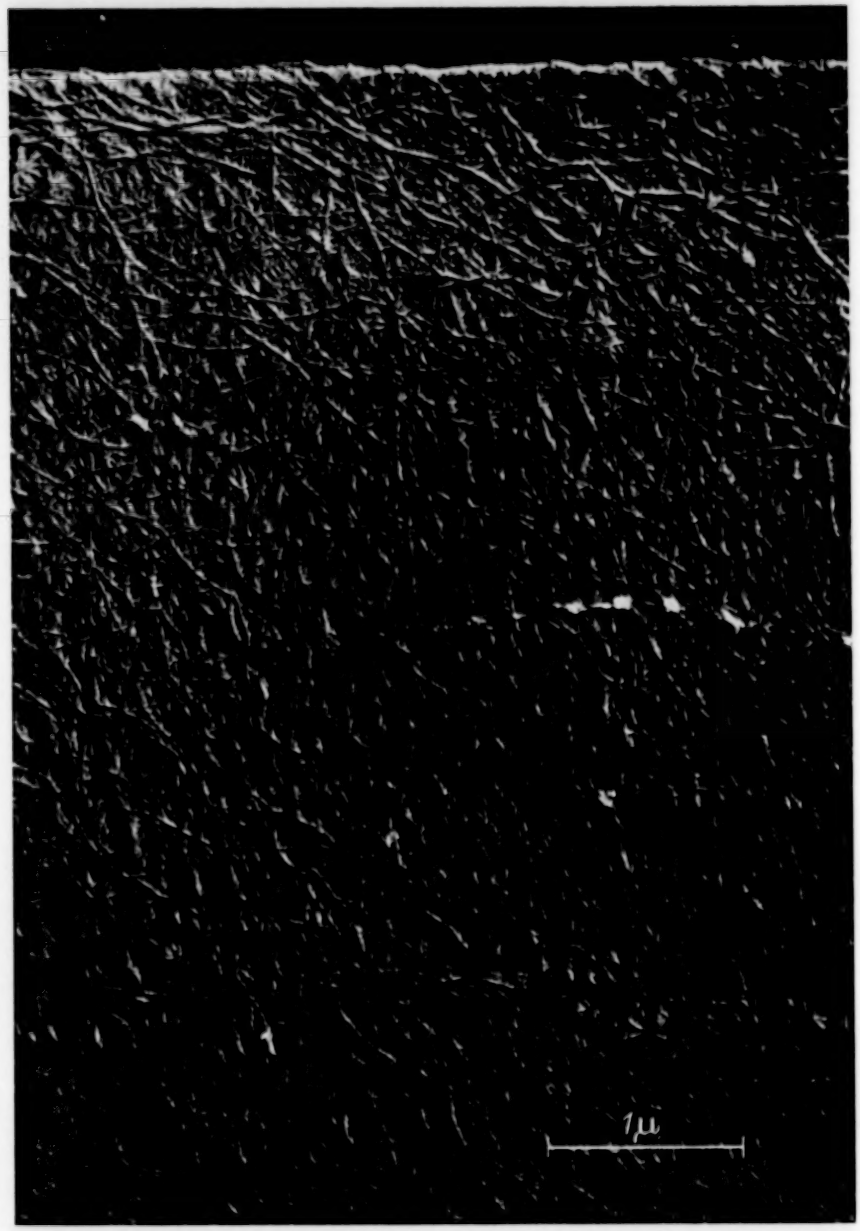


Abb. 18. Parenchymzelle, ca. 200 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Fibrillen vorwiegend quer, beginnende Umorientierung in der äußeren Wandschicht. Vergr.: 26 000 : 1

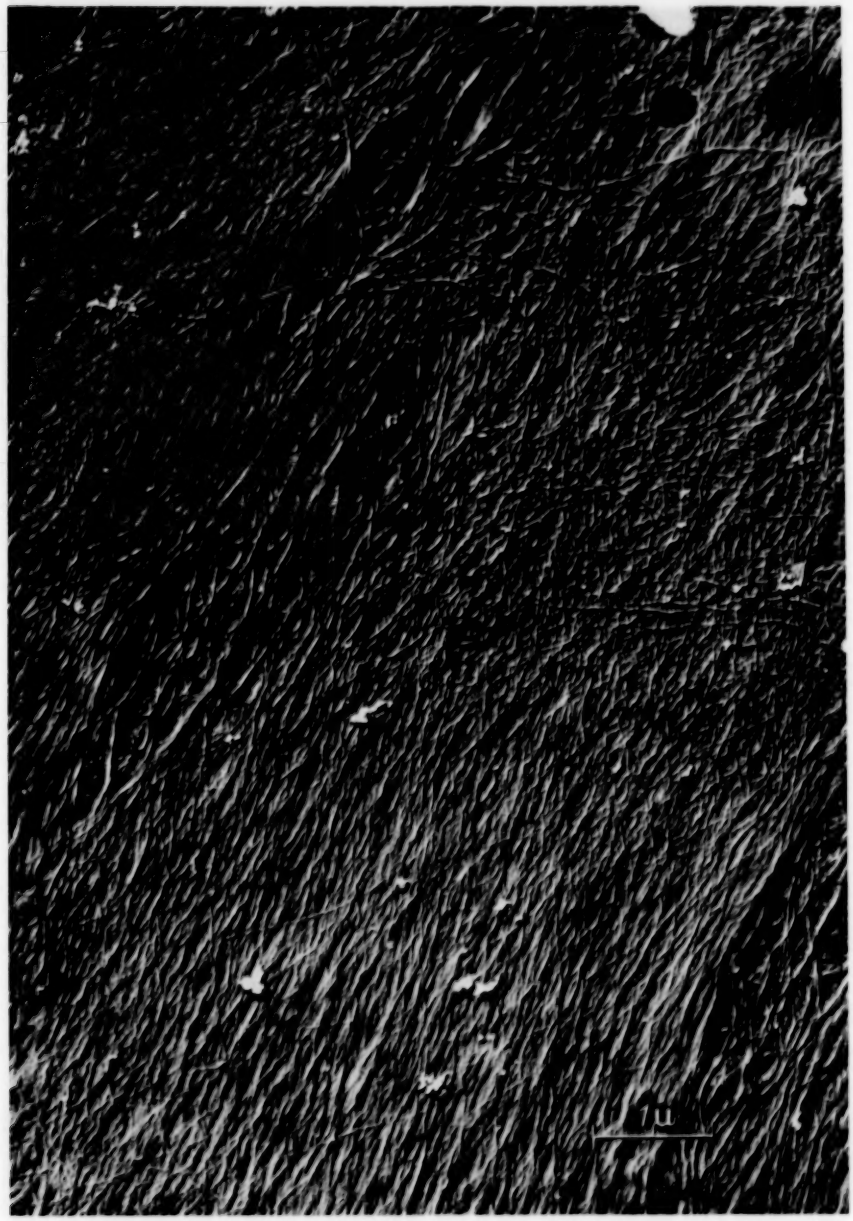


Abb. 19. Parenchymzelle, ca. 300 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Lanzettförmige Tüpfel, beginnende Umorientierung der Fibrillen in die Längsachse der Zelle. Vergr.: 16100 : 1

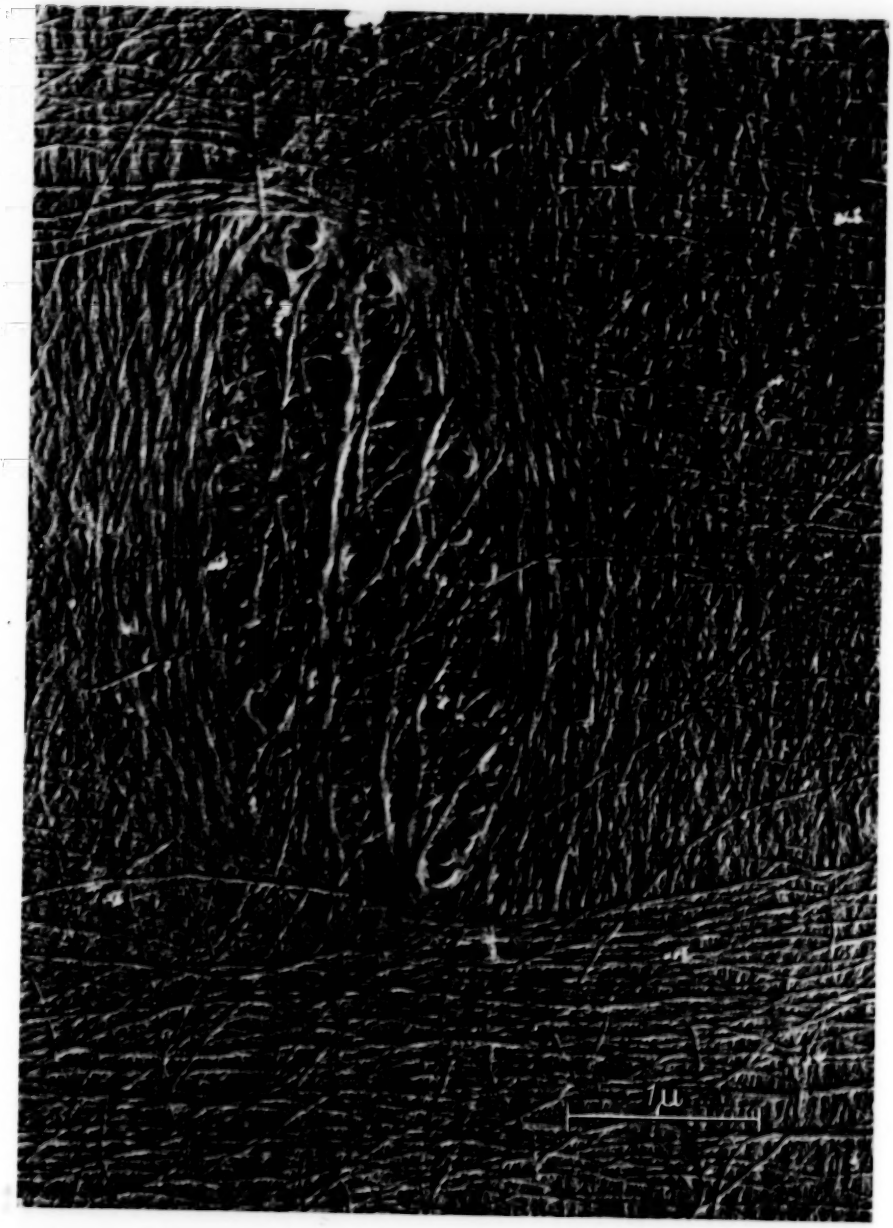


Abb. 20. Wandstück mit Tüpfel aus einer ca. 400 µ langen Parenchymzelle. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Beginnende Einengung des ovalen Tüpfels durch Längsfibrillen. Vergr.: 26 000:1

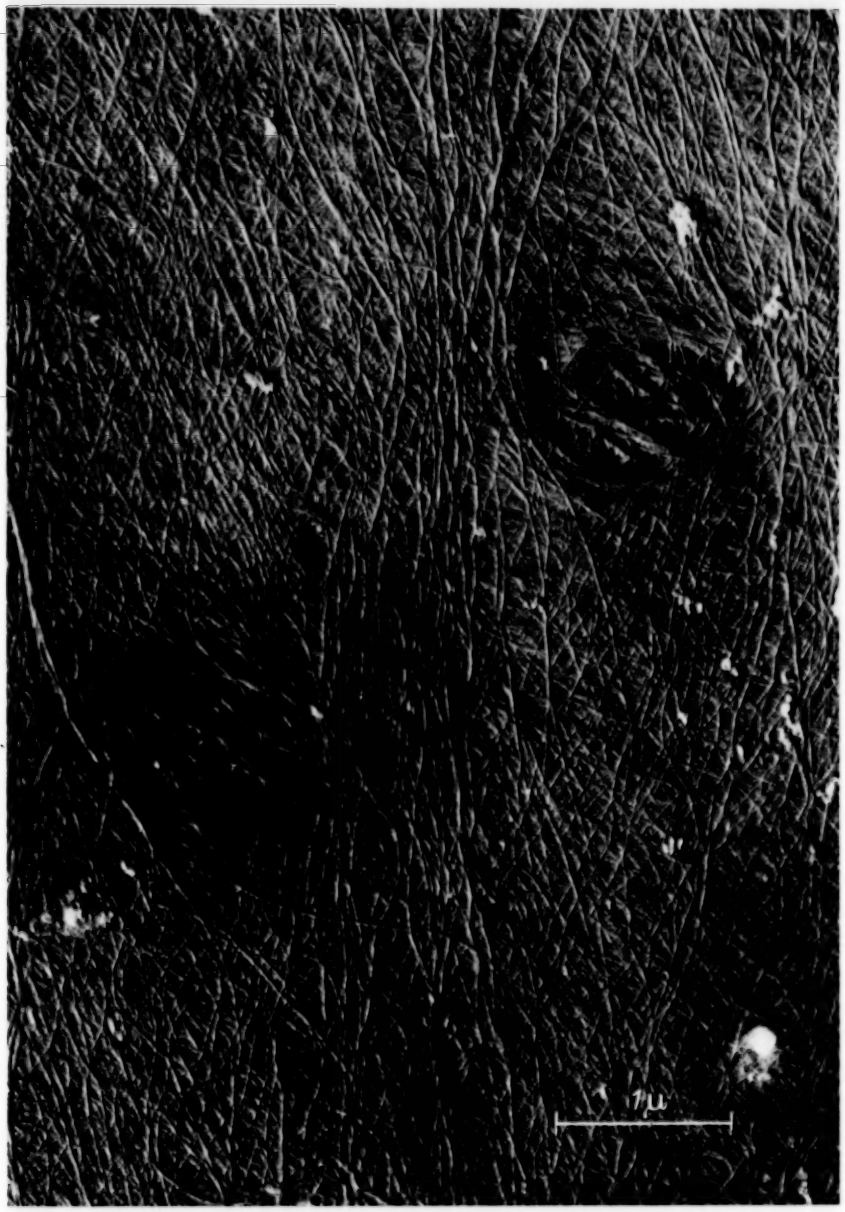


Abb. 21. Parenchymzelle, ca. 600 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Tüpfel rund, durch Längsfibrillen eingeengt. Vergr.: 21 500:1

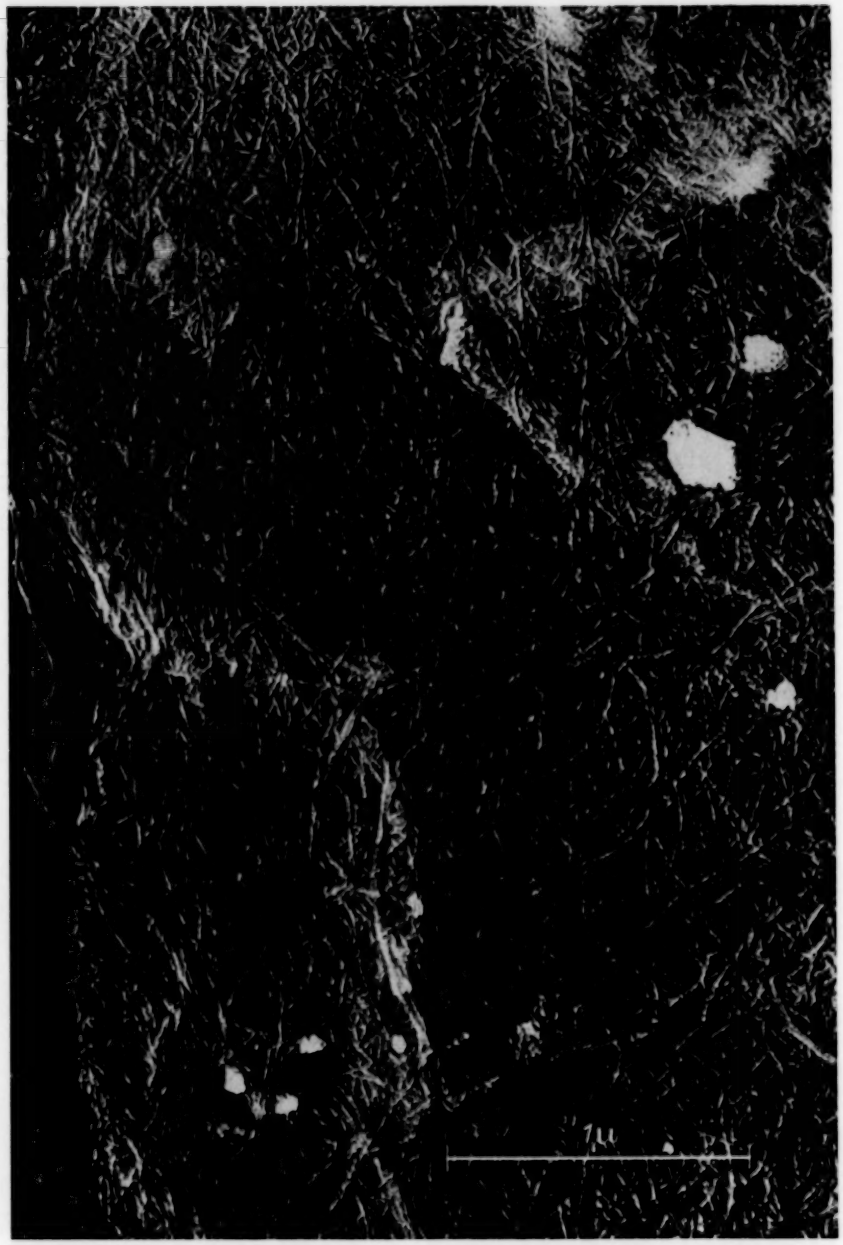


Abb. 22. Parenchymzelle, ca. 400 μ lang. Längsachse in Richtung des Maßstabes. Querwand, lockeres Fibrillengeflecht. Vergr.: 38500 : 1

übereinanderliegenden Zellen werden auch noch lange nach der Zellteilung durch die Längsfibrillen der Kantenverstärkungen verbunden. Deutlich abgegrenzte Poren sind nicht zu erkennen. Nach Abschluß des Streckungswachstums werden diese Wände dicker und die Zellen trennen sich voneinander. Eine Sekundärwand wird bei den Parenchymzellen der Avena-Koleoptile nicht angelegt.

D. Diskussion

I. Vergleich der Ergebnisse mit denen anderer Arbeiten über das Wachstum der Zellwände

1. Bipolares Spitzenwachstum

Es wurde schon erwähnt, daß MÜHLETHALER nach licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Zellmembranen von Mais- und Haferkoleoptilen zu dem Ergebnis kam, daß sich alle Zellen (Parenchym-, Epidermis-, Xylem- und Phloemzellen) nur durch ein bipolares Spitzenwachstum „strecken" (MÜHLETHALER 1950).

Ein bipolares Spitzenwachstum läßt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht vereinbaren. Durch die Versuche mit ^{14}C-markierten Hexosen ist eindeutig bewiesen worden, daß bei den Parenchym- und Epidermiszellen auf der ganzen Wandfläche gleichmäßig Cellulose eingelagert wird: Die Zellen wachsen also durch Intussuszeption. Die von MÜHLETHALER im Elektronenmikroskop beobachteten dünnen Zonen an den Enden der Parenchymzellen sind wahrscheinlich nur die Querwände gewesen, deren Fibrillengeflecht ja bis gegen Ende des Streckungswachstums locker bleibt. Die Vertikalwände dagegen sind auf der ganzen Fläche dichter; die stabilen Kantenverstärkungen reichen bis an das Ende der Zelle. Im Lichtmikroskop wurden auch vereinzelt Zellen mit dünnwandigen Auswüchsen beobachtet. Auf dem „stripping-film" waren aber die Schwärzungen auf den dünnen Wandflächen eher schwächer als auf den dickeren. Das deutet darauf hin, daß diese Unterschiede in der Struktur der Wand durch die Maceration hervorgerufen werden. MÜHLETHALER ist der Ansicht, daß die Kantenverstärkungen aus enggelagerten, parallel orientierten Fibrillen eine Dehnung der Wand in der Längsachse unmöglich machen. Nun sind aber, wie im Kapitel C III, 1 schon angeführt wurde, die Cellulosefibrillen in der lebenden Wand immer noch durch andere Wandstoffe und durch Plasma getrennt, so daß eine Streckung auch dieser Kanten durchaus vorstellbar ist. Eine Dehnung der noch weitaus dickeren Wand der Epidermiszellen hält MÜHLETHALER für ausgeschlossen. Aber auch diese mehrere μ dicke Celluloseschicht muß sich auf der ganzen Fläche vergrößern, da während der Streckung überall gleichmäßig Cellulose eingelagert wird. Selbst an den spitz

auslaufenden Zellenden, die nach MÜHLETHALER Orte intensiver Cellulosesynthese sein sollen, zeigen sich keine stärkeren Schwärzungen als auf den übrigen Wandflächen.

Bei Gefäßzellen wurde schon immer Spitzenwachstum vermutet (SCHOCH-BODMER und HUBER 1946). Um so überraschender ist es, daß wenigstens in frühen Wachstumsstadien keine Unterschiede in der Celluloseeinlagerung beobachtet werden konnten. Ein Spitzenwachstum ist darum aber auch nicht ganz ausgeschlossen: Die Verstärkungsleisten können an den Zellenden neu entstehen und werden in der Zellmitte nur noch weiter verdickt, so daß sich keine Unterschiede in der Intensität der Celluloseeinlagerung zwischen den verschiedenen Regionen der Zelle ergeben. Da die Einlagerung von Cellulose in die Ringe und Schraubenwindungen aber sehr lange anhält und eine auffällige Verdickung dieser Leisten nicht beobachtet werden konnte, liegt der Schluß nahe, daß auch diese stabilen Verdickungen sich strecken. In späteren Wachstumsstadien vergrößern dann nur noch die nicht verstärkten Teile der Wand ihre Oberfläche.

2. „*Multi-net-growth*", *Intussuszeptionswachtum*

In der Einleitung ist bereits das von ROELOFSEN gefundene „multinet-growth" beschrieben worden. Diese Art des Wachstums ist offensichtlich dem Flächenwachstum der Parenchymzellen in der Avena-Koleoptile sehr ähnlich. Auch hier konnte eine Umlagerung der Fibrillen während des Streckungswachstums einwandfrei festgestellt werden (Abb. 9 und 10). Die elektronenoptischen Aufnahmen zeigen dann weiter, daß diese Umlagerung in den äußeren Wandschichten beginnt (Abb. 18, 19) und dann auf immer tiefer liegende Schichten übergreift (Abb. 21). Die außen liegenden Fibrillen werden wahrscheinlich passiv in die Längsachse gezogen, während der Einbau neuer Fibrillen ständig in den inneren Wandschichten parallel zur Querachse erfolgt. Wahrscheinlich sind auch die Fibrillen der Kantenverstärkungen zum Teil passiv dorthin gezogen worden; denn die Längsfibrillen der Kanten liegen immer außen. So läßt sich auch erklären, daß die Kantenverstärkungen durch Schwärzungen weniger hervortreten als man nach der deutlichen Anfärbung mit Benzoazurin annehmen sollte: Wenn die Zelle die ^{14}C-markierten Hexosen aufnimmt, zu Cellulose synthetisiert und in die inneren Wandschichten einlagert, enthält die Cellulose der jetzt außen liegenden Fibrillen natürlich noch kein ^{14}C. Diese Fibrillen können sich also, wenn sie mehr zu den Kanten hin umgelagert werden, nicht durch stärkere Schwärzungen deutlicher machen. Wenn sich bei ca. 30% der Zellen in jüngeren Streckungsstadien die Kanten doch durch intensivere Schwärzungen hervorheben, so nur deshalb, weil an den Kanten auch

die jungen, innenliegenden Querfibrillen nicht durch Tüpfel getrennt werden, wie zwischen den verdickten Kanten. Gegen Ende der Streckungsphase sind dann die Tüpfel weiter voneinander entfernt, und die mit ^{14}C markierte Celluloseschicht ist also überall gleich dick, so daß sich die Kanten nicht mehr durch stärkere Schwärzungen abheben können.

O'KELLEY hat versucht, den Ablauf der Wandstreckung in der Baumwollfaser mit Hilfe von radioaktivem Kohlenstoff zu verfolgen: Baumwollpflanzen mit nicht ausgewachsenen Samenkapseln wurden in einen Raum mit radioaktivem CO_2 gebracht und nach kurzer Einwirkungszeit wieder im Gewächshaus bis zur Reife der Samenkapsel weiter kultiviert. Die ausgewachsenen Baumwollfasern wurden maceriert und auf photographische Platten gelegt. Das Cellulosegerüst der ganzen Wandfläche erwies sich als radioaktiv (O'KELLEY 1953). Nach dem von ROELOFSEN bei Baumwollfasern gefundenen „multi-net-growth" muß auch eine Celluloseeinlagerung auf der ganzen Wand erfolgen. Dieses Ergebnis ist jedoch noch kein exakter Beweis für ein gleichmäßiges Wandwachstum; denn es ist möglich, daß ^{14}C zunächst im Zellinneren gespeichert und erst später in die Zellwand eingebaut wird. Eine Umkehrung des Versuches würde wahrscheinlich eher ein eindeutiges Ergebnis bringen: Wenn die Baumwollpflanze mit fast ausgereiften Samenkapseln in eine Atmosphäre mit radioaktivem CO_2 gebracht und dort bis zur Reife weiter kultiviert wird, kann auch die mögliche Speicherung eines Teils des aufgenommenen ^{14}C im Plama nicht stören. Bei einem Spitzenwachstum darf bei dieser Versuchseinstellung nur das Ende der Faser radioaktiv sein. Voraussetzung ist dabei, daß alle nichtcellulosischen Stoffe vor der Prüfung mit strahlungsempfindlichen Schichten aus dem Zellgerüst entfernt werden.

CASTLE entnahm 3 Tage alten Koleoptilen Sektionen und legte diese auf einen Objektträger in einen Tropfen Wasser, der Wuchsstoff und Saccharose enthielt. Die Oberfläche des Koleoptilzylinders ragte dabei aus der Flüssigkeit heraus und wurde mit Kupferoxyd bestreut. Die wachsenden Sektionen photographierte CASTLE unter dem Mikroskop in verschiedenen Zeitabständen und maß die jeweiligen Abstände zwischen best. Kupfer-Oxyd-Partikeln auf den Negativen. Es ergab sich, daß die Abstände zwischen den Partikeln und der äußeren Epidermis gleichmäßig größer wurden. Durch Aufspalten der Koleoptilzylinder in der Längsachse konnten auch Messungen auf der inneren Epidermis durchgeführt werden. Hier gelang es CASTLE auch, die jeweiligen Abstände zwischen best. Partikeln auf einer Zelle zu bestimmen; nach 22 Stunden waren die Partikel um 20 bis 25% weiter auseinandergerückt (CASTLE 1955).

CASTLE schließt aus diesen Versuchsergebnissen, daß sich die Zellen der äußeren und inneren Epidermis auf der ganzen Wandfläche gleichmäßig dehnen. Das stimmt mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen überein. Bei den Zellen der inneren Epidermis ist der Ort der Celluloseeinlagerung zwar nicht bestimmt worden; es ist jedoch unwahrscheinlich, daß sich diese Zellen beim Streckungswachstum grundsätzlich anders verhalten sollten.

SCOTT, HAMNER, BAKER und BOWLER (1956) untersuchten elektronenoptisch die verschiedenen Wachstumsstadien der Rindenzellen in der Zwiebelwurzel. Das Meristem an der Spitze ist 1 mm lang. Es folgt dann die 2 mm lange Streckungszone. Die jüngsten Zellen sind vielkantig. Das netzartige Fibrillengeflecht der Wände wird von zahlreichen, nicht scharf abgegrenzten Poren durchbrochen; nur die größeren Poren sind auch im Lichtmikroskop sichtbar. Vertikal- und Querwände können in diesem Stadium nicht unterschieden werden. Diese Wandstruktur bleibt bei der folgenden Zellverlängerung in den Querwänden erhalten. Die Poren ordnen sich radial und werden zur Vertikalwand hin im Durchmesser größer. In den Vertikalwänden sind die schmalen, linearen Tüpfel anfangs diffus verteilt. In älteren Zellen ordnen sie sich vertikal an und werden durch nichtgetüpfelte Wandbezirke getrennt. Die Fibrillen liegen meist horizontal. Die dicht nebeneinanderliegenden Tüpfel werden in ihrer ganzen Länge von dicken Strängen durchzogen. An beiden Enden der Tüpfel laufen diese Stränge in ein poröses Maschenwerk aus, das dann in die nicht getüpfelten Wandflächen einmündet. Die Innenfläche der Tüpfel ist von einem losen Fibrillennetz ausgefüllt. Während des Längenwachtums bleibt die Einlagerungsrichtung der Fibrillen meist horizontal; die Tüpfel rücken mehr auseinander, vergrößern ihre Höhe und werden elliptisch. Wenn das Streckungswachstum fast beendet ist, ändert sich das Fibrillenmuster wieder und wird zu einem Netzwerk. Der Wechsel in der Fibrillenrichtung beginnt in den tüpfellosen Wandflächen. In der folgenden Wurzelhaarzone entsteht innen auf der Primärwand eine Sekundärwand mit Parallelstruktur. Stränge dieser Sekundärwand bedecken auch die Tüpfel (SCOTT, HAMNER, BAKER und BOWLER 1956).

Die Änderungen in der Wandstruktur der Rindenzellen in der Zwiebelwurzel sind also so ähnlich wie die bereits beschriebenen Veränderungen der Parenchymzellwände in der Avena-Koleoptile. Da bei der Avena-Koleoptile in dem von uns untersuchten Alter ein aktiver Vegetationskegel an der Spitze fehlt, sind solche charakteristischen Meristemzellen mit einem netzartigen Fibrillengeflecht nicht vorhanden. Die Fibrillen in den Wänden der meristematischen Zellen aus kleinen Koleoptilen liegen nicht immer kreuz und quer durcheinander, sondern es wird meistens die Querlage bevorzugt. Kleine Poren konnten nicht entdeckt werden; es sind schon gleich größere, von Fibrillen locker durchzogene

Tüpfel vorhanden. Die beschriebenen vertikalen, tüpfellosen Wandfelder entsprechen den Kantenverstärkungen der Parenchymzellen in der Avena-Koleoptile. Diese Wandbezirke der Rindenzellen aus der Zwiebelwurzel haben aber in frühen Streckungsstadien noch keine Längsfibrillen. Die Umorientierung der Fibrillen setzt später ein als in den Parenchymzellen der Avena-Koleoptile, beginnt aber auch in den tüpfellosen Wandbezirken. Eine echte Sekundärwand wird in den Zellen der Avena-Koleoptile nicht angelegt. Die streng parallelen Fibrillen in den Kantenverstärkungen können nicht als Anfänge einer Sekundärwand betrachtet werden, da sie größtenteils in äußeren Wandschichten liegen, während eine echte Sekundärwand immer innen abgeschieden wird.

Von WARDROP wurde besonders untersucht, ob die Zahl der Lockerstellen (Tüpfel) in der Wand der Parenchymzellen der Avena-Koleoptile während des Flächenwachstums variiert. Die statistische Auszählung an jungen und alten Zellen ergab, daß die einmal angelegten Plasmodesmen während der ganzen Zellentwicklung erhalten bleiben. Durch die Flächendehnung rücken sie nur mehr auseinander. Dabei sollen sich auch die dazwischen liegenden Wandbezirke auflockern (WARDROP 1955). Letzteres konnte bei den vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden: Die Wandflächen zwischen den Tüpfeln zeigten nie Lockerstellen. Dagegen konnte auch beobachtet werden, daß die Zahl der Tüpfel sich während der Zellstreckung nicht wesentlich ändert; sie scheint aber eher kleiner als größer zu werden. Statistische Auszählungen wurden nicht gemacht. Bei den Zellen aus der Wurzel des Maiskeimlings ist gefunden worden, daß die Zahl der Tüpfel mit zunehmender Zellgröße abnimmt (WHALEY, MERICLE und HEIMSCH 1952).

WARDROP sieht in den Tüpfeln die Synthesenzentren für Cellulose: Die neuen Fibrillen sollen hier eingeflochten werden. Vielleicht lassen sich durch diese Annahme die schon beschriebenen Schwärzungsunterschiede deuten: Gegen Ende des Streckungswachstums zeigen die Vertikalwände häufig in der Querachse verlaufende Zonen mit stärkeren Schwärzungen. Es können dies die Wandflächen sein, die von den weit auseinanderliegenden Tüpfeln nach WARDROP neu aufgebaut werden. Die Neueinlagerung von Cellulose kann jedoch nicht ausschließlich von den Tüpfeln aus erfolgen, da dann die Schwärzungsfelder schärfer abgegrenzt sein müßten. Wahrscheinlich wird auf der ganzen inneren Wandfläche Cellulose eingelagert; die Neueinflechtung von Fibrillen ist nur in der Nähe der Tüpfel besonders intensiv.

3. Mosaikwachstum

Die von WARDROP beschriebene Art der Wandvergrößerung kommt dem von FREY-WYSSLING gefundenen „Mosaikwachstum" nahe (FREY-WYSSLING und STECHER 1951).

Elektronenoptische Aufnahmen von macerierten Zellwänden zeigen immer wieder, daß die Cellulosegerüste aus einem Flechtwerk von Fibrillen bestehen; also liegen in der lebenden Zellwand die Fibrillen nicht in einer Ebene. Daher hatte sich die Ansicht durchgesetzt, daß ein Einflechten von einzelnen Fibrillen in die Wand unmöglich sei, und daß darum die Fibrillen eines Flechtwerks alle gleichzeitig im wandständigen Plasma entstehen und auch abgelegt werden müßten. Für ein Flächenwachstum wird deshalb immer ein Auseinanderrücken oder sogar Auflösen von Fibrillen gefordert, um eine Neueinlagerung von Fibrillen zu ermöglichen (BÜNNING 1953). Dagegen ist einzuwenden: Zwischen den Fibrillen ist in vivo immer noch genügend Raum, so daß ein Einfügen von einzelnen Fibrillen und ohne vorherige auffällige Ausweitung der „Maschen" wie beim Mosaikwachstum möglich ist. Es ist daher wahrscheinlich, daß die von FREY-WYSSLING beobachteten ovalen Lockerstellen gar nichts mit dem Streckungswachstum zu tun haben, sondern die ersten Anfänge von Tüpfeln sind. Diese Ansicht wird auch durch die Ergebnisse der Untersuchungen von WILSON bestätigt: WILSON fand in Rindenparenchymzellen von *Elodea canadensis* nur Perforationen im Cellulosegerüst bei solchen Längswänden, die an Nachbarzellen grenzen. Die Längswände, die an Intercellularräume grenzen, zeigen keine Perforationen (WILSON 1957).

II. Physiologische Probleme der Zellwandvergrößerung

1. Die Wirkung des Turgordrucks

SACHS stellte zuerst die Theorie auf, daß der Turgordruck die treibende Kraft bei der Zellstreckung sei (SACHS 1873). Dagegen vermutete PFEFFER in dem Wandwachstum selbst, d. h. in der Einlagerung neuer Wandsubstanz, die eigentliche treibende Kraft bei der Vergrößerung des Zellvolumens (PFEFFER 1893). MÜHLETHALER kehrt zu dieser Auffassung von PFEFFER zurück (MÜHLETHALER 1950). Auch HAAS (1955) argumentiert gegen SACHS, daß der Turgordruck das Cytoplasma aus dem lockeren Geflecht an den Polen der Zelle herauspressen würde, statt das Gewebe der Mikrofibrillen innerhalb der Zellwand zu dehnen.

Ein Kompromiß in dieser Streitfrage kommt den tatsächlichen Gegebenheiten wohl am nächsten. So sieht POHL die treibende Kraft bei der Streckung im Zusammenwirken beider Faktoren; denn eine Vergrößerung der Wand hat nicht unbedingt die Vergrößerung des Zellvolumens zur Folge: Erst eine Spannung der vergrößerten Wandfläche durch den Turgordruck bringt auch eine Erweiterung des Volumenzustandes (POHL 1954).

2. Die Wirkung des Wuchsstoffes

SÖDING konnte eine Parallele zwischen Wuchsstoffkonzentration und dem Grad der plastischen Wanddehnbarkeit nachweisen (SÖDING

1929, 1931 und 1934). Dabei blieb zunächst die Frage offen, ob diese Erhöhung der Plastizität Ursache oder Folge des Streckungswachstums sei. Heyn glaubte dann, daß der Wuchsstoff direkt auf die Wand einwirke und deren plastische Dehnbarkeit erhöhe (Heyn 1940). Dagegen hat sich heute die Ansicht durchgesetzt, daß der Wuchsstoff nicht direkt auf die Wand einwirkt, sondern zunächst die Wasseraufnahme der Zelle steigert. Die Erhöhung des Wassergehaltes ist bei der Streckung nämlich sehr augenfällig: Meristematische Zellen haben keine Vacuolen im Plasma, ausgewachsene Zellen haben dagegen große Vacuolen. Nach Pohl fördert nun der Wuchsstoff die Wasseraufnahme auf zwei Wegen: Erstens über die Plasmagrenzflächen durch eine Erhöhung der Permeabilität und zweitens durch eine Steigerung der binnenplasmatischen Prozesse, die eine Erhöhung der Saugkraft zur Folge hat (Pohl 1948 und 1953). Blank und Frey-Wyssling (1941) konnten zeigen, daß die Zellvergrößerung nicht durch die Wasseraufnahme allein hinreichend beschrieben ist: Es wurden die Gehalte an Lipoiden, Zucker, Hemicellulose, Pektin usw. bei Koleoptilen verschiedener Größe bestimmt. Beim Vergleich der entsprechenden Werte zwischen 9 mm langen und 55 mm langen Koleoptilen ergab sich sogar ein Anstieg für Lipoide, Pektine und besonders für Cellulose. Der Zuckergehalt blieb konstant. Ob und inwieweit der Wuchsstoff die Synthese dieser Stoffe fördert, ist noch nicht experimentell bestimmt worden.

Zusammenfassung

1. Es wurde eine Methode entwickelt, um mit Hilfe ^{14}C-markierter Hexosen den Ort der Celluloseeinlagerung beim Streckungswachstum zu bestimmen.

2. Bei Parenchym-, Epidermis-, Xylem- und Phloemzellen der Avena-Koleoptile wird während der Zellverlängerung in der ganzen Wandfläche Cellulose eingebaut.

3. Anzeichen für ein bipolares Spitzenwachstum konnten nicht gefunden werden.

4. Es wurde unter Ausnutzung des Benzoazurin-Dichroismus ein Verfahren zur Bestimmung der mittleren Einlagerungsrichtung der Cellulosefibrillen entwickelt.

5. In der Hauptstreckungsphase vergrößert sich bei den Fibrillen der Parenchymzellen der mittlere Steigungswinkel zur Querachse der Zelle.

6. Das Cellulosegerüst von Parenchymzellen verschiedener Wachstumsstadien ist polarisationsoptisch und elektronenoptisch untersucht worden. Es konnten die unter 5. angeführten Ergebnisse direkt bestätigt werden. Die Umorientierung der Fibrillen beginnt in den äußeren Wandschichten. Die anfangs ovalen Tüpfel werden während des Streckungswachstums durch Längsfibrillen eingeengt und dadurch rund.

7. Die Ergebnisse werden mit denen anderer Arbeiten verglichen und der Einfluß des Turgordrucks und des Wuchsstoffes auf die Zellstreckung diskutiert.

Herrn Prof. Dr. F. OEHLKERS danke ich für die Bewilligung der Mittel. Das Thema der Arbeit stellte mir Herr Prof. Dr. R. POHL, dem ich für seine wertvollen Anregungen herzlich danke. Nachdem dieser nach Istanbul berufen wurde, stand mir Herr Dozent Dr. M. BOPP mit Rat und Tat zur Seite.

Literatur

AVERY jr., G. S.: Comparative anatomy and morphology of embryos and seedlings of maize, oats, and wheat. Bot. Gaz. **89**, 1—39 (1930). — AVERY jr., G. S., and P. R. BURKHOLDER: Polarized growth and cell studies on the Avena coleoptile, phytohormon test object. Bull. Torrey Bot. Club **63**, 1—15 (1936). — BLANK, F., u. A. FREY-WYSSLING: Ber. schweiz. bot. Ges. **51**, 116 (1941). Ref. nach FREY-WYSSLING 1953. — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — CASTLE, E. S.: The mode of growth of epidermal cells of the Avena coleoptile. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **41**, 197—199 (1955). — FREY, A.: Die submikroskopische Struktur der Zellmembranen. Eine polarisationsoptische Studie zum Nachweis der Richtigkeit der Mizellartheorie. Jb. wiss. Bot. **65**, 195—223 (1926). — Das Wesen der Chlorzinkjodreaktion und das Problem des Faserdichroismus, ein Beitrag zur Theorie der Färbungen. Jb. wiss. Bot. **67**, 597—634 (1928). — FREY-WYSSLING, A.: Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin: Springer 1935. — Submicroscopic morphology of protoplasm. Amsterdam-Houston-London-New York: Elvesier Publishing Company 1953. — Pflanzenzytologie und Elektronenmikroskopie. Endeavour **14**, 34—39 (1955). — FREY-WYSSLING, A., u. H. STECHER: Das Flächenwachstum der pflanzlichen Zellwände. Experientia (Basel) **7**, 420 (1951). — GROSS, J., R. BOGOROCH, N. J. NADLER and C. P. LEBLOND: The theory and methods of the radioautographic localisation of radioelements in tissues. Amer. J. Roentgenol. **65**, 420—458 (1951). — HAAS, J.: Physiologie der Zelle. Berlin-Nikolasee: Gebrüder Bornträger 1955. — HEYN, A. N.: Proc. Acad. Sci. Amsterdam **36**, 560—566 (1933). — Protoplasma **21**, 299—305 (1934). — N. J. Bot. Rev. **6**, 515—574 (1940). — MÜHLETHALER, K.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Feinbau und das Wachstum der Zellmembranen in Mais- und Haferkoleoptilen. Ber. schweiz. bot. Ges. **60**, 614—628 (1950). — O'KELLEY, J. C.: The use of C_{14} in locating growth regions in the wall of elongating cotton fibers. Plant Physiol. **28**, 281—286 (1953). — PFEFFER, W.: Druck und Arbeitsleistung durch wachsende Pflanzen. Leipzig 1893. — POHL, R.: Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta (Berl.) **36**, 230—261 (1948). — Zur Reaktionsweise des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung. Planta (Berl.) **41**, 343—372 (1953). — 25 Jahre Wuchsstofforschung. Naturwiss. **41**, 392—400, 414—420 (1954). — ROELOFSEN, P. A.: Orientation of cellulose fibrille in the wall of cotton hairs and its bearing on the physiology of cellwall growth. Biochim. et Biophysica Acta **7**, 43—53 (1951). — ROELOFSEN, P. A., u. A. L. HOUWINK: Fibrillar architecture of growing plant cell walls. Acta bot. neerl. **3** (3), 385—395 (1954). — ROTHERT, W.: Über Heliotropismus. Beitr. Biol. Pflanz. **7**, 1—212 (1894). — SACHS, J.: Lehrbuch der Botanik, 3. Aufl. 1873. — SCHOCH-BODMER, H., u. P. HUBER: Mitt. naturforsch. Ges. Schaffhausen **29**, 29—43 (1946). — SCOTT, F. M., K. C. HAMNER, E. BAKER and E. BOWLER: Electron microscope studies of

cell wall growth in the onion root. Amer. J. Bot. **43**, 313—324 (1956). — Söding, H.: Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **74**, 127—151 (1931). — Über die Wachstumsmechanik der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **79**, 231—255 (1934). — Wardrop, A. B.: Mechanism of surface growth in parenchyma of Avena coleoptiles. Austral. J. Bot. **3**, 137—148 (1955). — The mechanism of surface growth in the parenchyma of Avena coleoptiles. Biochim. et Biophysica Acta **21**, 200—201 (1956). — Whaley, W. G., L. W. Mericle and Ch. Heimsch: The wall of the meristematic cell. Amer. J. Bot. **39**, 20—26 (1952). — Wilson, K.: Ann. of Bot., N. S. **21**, 1—11 (1957). — Wuhrmann, K., u. W. Meyer: Jb. wiss. Bot. **87**, 642—678 (1939). — Ziegenspeck, H.: Der Nachweis feinster Filia bei der Tüpfelbildung in sich streckenden Zellen mit Hilfe dichroitischer Färbung. Mikroskopie (Wien) **8**, 121—126 (1953).

Dr. H. Böhmer, Bremen, Kohlhökerstr. 14

Planta, Bd. 50, S. 498—503 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. Dr. H. v. Guttenberg)

DER MECHANISMUS DER NARBENBEWEGUNG VON MIMULUS SP. IN SEINER ABHÄNGIGKEIT VON DER OXYDATIVEN ATMUNG

Von
Hermann v. Guttenberg und Botho Reiff

(Eingegangen am 28. September 1957)

Auf einer Arbeit von Correns (1892) aufbauend, wies Bünning (1935 a) für die seismonastisch reizbaren Filamente von *Berberis*, *Sparmannia* und *Helianthemum* nach, daß der Sauerstoff nicht für die Reizreaktion selber, wohl aber für die Erhaltung der Reizbarkeit und die Restitution notwendig ist. Mit dem erhöhten Sauerstoffbedarf während der Restitution geht auch eine Wärmebildung parallel. Wie Bünning jedoch selbst betont, lassen seine Versuche noch keinen genauen Einblick in das Wesen der Vorgänge zu. Sie gestatten aber die Annahme, daß der Restitutionsvorgang von der oxydativen Atmung abhängig ist, während die unmittelbar nach der Reizung ablaufenden Prozesse („Zerfallsvorgang") von der Atmung unbeeinflußt sind.

Derselbe Autor konnte in einer Reihe von Arbeiten (Bünning 1928, 1930a, b, c, 1933a, b, 1934, 1935b, c, 1938) den Nachweis erbringen, daß die seismonastische Reaktion mit einem Semipermeabilitätsverlust verbunden ist. Die Energie für die Bewegung stammt aus dem Wanddruck, wäre also von rein osmotischer Energie herzuleiten und demzufolge nicht mit einer „aktiven Tätigkeit" des Protoplasmas in Beziehung zu bringen. Hingegen ist die Erhaltung der Semipermeabilität atmungsabhängig, was Brauner und Mitarbeiter (1940) durch Sauerstoffentzug und neuerdings v. Guttenberg und Reiff (1957) mit Hilfe von Atmungsgiften beweisen konnten (vgl. auch Reiff und v. Guttenberg 1957). Wenn nun der Restitutionsprozeß seismonastisch gereizter Organe in einer atmungsabhängigen Wiederherstellung der Semipermeabilität besteht, so dürfte er nicht nur durch Sauerstoffentzug aufgehoben oder verzögert werden, sondern bei Sauerstoffgegenwart auch durch spezifisch wirkende Atmungsgifte. Reizung und Reaktion jedoch müßten unbeeinflußt bleiben.

Nachfolgend soll über erste Versuche dieser Art mit gasförmiger HCN berichtet werden. Dadurch ist zugleich die Möglichkeit gegeben, im Gegensatz zu Correns (1892) und Bünning (1935a) weit klarer darüber zu entscheiden, ob der Sauerstoff bei der Entstehung der Reaktion oder erst während der Restitutionsperiode notwendig ist.

Material und Methode

Für unsere Versuche verwendeten wir das nach COLLA (1937) seismonastisch einfachste Objekt, nämlich die Narben von *Mimulus*arten (*M. luteus* und *M. moschatus*). Beide Narbenlappen wurden durch leichte Zerrung mittels einer Platinöse gereizt. Die darauf einsetzende Reaktion führte zum vollständigen Schließen der Narbe. Nach kurzer Zeit begann sich die Narbe zu öffnen. Die Narbenlappen bewegten sich voneinander fort und erreichten nach unseren Versuchen innerhalb von 15—25 min einen Winkel von 70—90°. Diese Zeit wird von uns als Öffnungszeit (ÖZ) bezeichnet, da sich ein absolutes und relatives Refraktärstadium (BÜNNING 1928, 1930a, b, 1933a, b und 1935b) nur schwer herausdifferenzieren läßt. Nun sind die Öffnungszeiten im allgemeinen sehr verschieden. LUTZ (1911) gibt 10—15 min an und auch CRISTALLE (1932) weist auf die große Heterogenität der Narben in dieser Beziehung hin.

Wir selbst verwendeten Freilandmaterial des „Neuen Botanischen Gartens"[1]. Um einen Einfluß der Bestäubung auf den Mechanismus der Bewegung zu verhüten (LUTZ 1911, CRISTALLE 1932), wurden Schnittpflanzen, deren Blüten kurz vor dem Öffnen waren, über Nacht in Leitungswasser gestellt. Am andern Tag hatten sich die Blüten geöffnet. Die Blütenhülle und die Staubgefäße wurden vorsichtig entfernt. In der Regel wurden 6—10 ungereizte Narben für eine Versuchsserie verwendet. Die Narben wurden gereizt, die Öffnungszeiten bestimmt, und der Durchschnitt (D) berechnet. Wie Tabelle 1 zeigt, bleiben bei

Tabelle 1. *Öffnungszeiten und durchschnittliche Öffnungszeiten nach dreimaliger Reizung.* ÖZ = Öffnungszeit in Minuten und D = Durchschnitt nach....

Nr.	1. Reizung			2. Reizung			3. Reizung		
	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ
1	13^{03}	13^{24}	21	13^{27}	13^{48}	21	13^{49}	14^{10}	21
2	13^{03}	13^{24}	21	13^{27}	13^{48}	21	13^{49}	14^{12}	23
3	13^{04}	13^{18}	14	13^{27}	13^{37}	10	13^{49}	14^{01}	12
4	13^{04}	13^{18}	14	13^{27}	13^{37}	10	13^{49}	14^{01}	12
5	13^{04}	13^{23}	19	13^{27}	13^{37}	10	13^{51}	14^{05}	14
6	13^{05}	13^{23}	18	13^{27}	13^{45}	18	13^{50}	14^{15}	25
7	13^{05}	13^{26}	21	13^{28}	13^{48}	20	13^{50}	14^{10}	20
8	13^{05}	13^{26}	21	13^{28}	13^{49}	21	13^{50}	14^{11}	21
D	1. Reizung 18,6			2. Reizung 16,3			3. Reizung 18,5		

diesem Verfahren selbst nach mehrmaliger Reizung die Öffnungszeiten der Einzelpflanzen und demzufolge auch der Durchschnitt daraus annähernd konstant. Selbstverständlich ist für endgültige Entscheidungen eine große Anzahl Versuche notwendig.

[1] Herrn Gartenoberinspektor E. RULSCH sei für die Bereitstellung des Materials herzlich gedankt.

In den Versuchsserien wurden die Pflanzen mit HCN 2 mg/1 Liter Luft behandelt. Die Begasung fand unter einer Glocke von 15 Liter Rauminhalt statt. Nach der Begasung wurden die Narben sofort gereizt und die durchschnittlichen Öffnungszeiten mit denen der Kontrolle verglichen. Die Kontrollpflanzen befanden sich während der Versuchszeit unter einer nur mit Luft gefüllten Glasglocke.

Ergebnisse

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurde in einem Intervall von 30 bis 140 min begast. Für einzelne Narben wirkten mitunter allein der Aufenthalt in der HCN-Atmosphäre als Reiz. Sie schlossen sich jedoch

Tabelle 2. *Übersicht über das Verhalten der Narben von Mimulus sp. nach unterschiedlicher Behandlungsdauer mit HCN 2 mg/1 Liter Luft.* $ÖZ_V$ = Öffnungszeit des Versuchs, $ÖZ_K$ = Öffnungszeit der Kontrolle. t = Behandlungsdauer in Minuten

t	Narben reizbar und nach Reizung geschlossen	Narben 70 min nach der Reizung offen	Nach 20 Std		
			Narben offen	Narben reizbar	$ÖZ_V = ÖZ_K$
140	+	—	+	+	+
100	+	—	+	+	+
60	+	—	+	+	+
30	+	+	+	+	+

bedeutend langsamer als nach mechanischer Reizung. Das stimmt mit entsprechenden Beobachtungen von Lutz (1911) für die Wirkung geringer Dosen von Chloroform sowie von Bünning (1928) für Ammoniak und Essigsäure auf die chemische Reizbarkeit seismonastisch erregbarer Organe überein. Nach Ansicht Bünnings (1928) lösen chemische Reize im Gegensatz zu mechanischen die Erregung jedoch nur indirekt aus.

Grundsätzlich ist zu sagen, daß alle Narben, die bei 140 min Begasung (und natürlich auch in den niederen Begasungsstufen) offen blieben, ebensogut reizbar waren wie die Narben der Kontrolle. Während jedoch die Narben der Kontrolle innerhalb von 70 min 3mal gereizt werden können, blieben die des Versuchs nach einer Begasung von 140, 100 und 60 min während dieser Zeit vollständig geschlossen. Die Begasungsdauer von 140 min wirkte zum Teil auf die Blätter tödlich. Diese bekamen braune Stellen und wurden schlaff. Sie verhielten sich verschieden, je nachdem, ob die Pflanzen am natürlichen Standort im Schatten standen oder der Sonne ausgesetzt waren. Pflanzen relativ trockener Standorte erwiesen sich als widerstandsfähiger.

Da die Wirkung des CN^- in einer reversiblen Hemmung des Cytochromsystems besteht (James 1953), war zu überprüfen, ob das auch für

unser Versuchsobjekt zutrifft. An sich sprach schon die Tatsache dafür, daß die mit HCN behandelten Narben an der Luft nicht ständig geschlossen blieben. So reizten wir sie nach 20 Std erneut und fanden, daß jetzt die Öffnungszeiten denen der Kontrolle am Vortage entsprachen (Tabelle 2). Zur näheren Erläuterung sei aus unseren Protokollen folgender Versuch angeführt. Wie aus Tabelle 3a hervorgeht, betrugen die

Tabelle 3a. *Wiederholte Reizung der Narben von Mimulus sp.* ÖZ = Öffnungszeit in Minuten. D = Durchschnitt nach .... Kontrolle zu 3b

Nr.	1. Reizung			2. Reizung			3. Reizung		
	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ
1	12^{51}	13^{09}	18	13^{20}	13^{41}	21	13^{50}	14^{10}	20
2	12^{51}	13^{08}	17	13^{20}	13^{36}	16	13^{50}	14^{10}	20
3	12^{51}	13^{04}	13	13^{20}	13^{30}	10	13^{50}	14^{05}	15
4	12^{51}	13^{07}	16	13^{20}	13^{36}	16	13^{50}	14^{05}	15
5	12^{51}	13^{04}	13	13^{20}	13^{30}	10	13^{50}	14^{05}	15
6	12^{51}	13^{15}	24	13^{20}	13^{44}	24	13^{50}	14^{10}	20
D	1. Reizung 16,8			2. Reizung 16,1			3.Reizung 17,5		

Öffnungszeiten der Kontrolle nach der 1., 2. und 3. Reizung im Durchschnitt 16,8, 16,1 und 17,5 min. Die Versuchspflanzen wurden 30 min mit HCN behandelt. Danach wurden die Narben sofort gereizt. Die durchschnittliche Öffnungszeit nach der ersten Reizung betrug 55,1 min (Tabelle 3b).

Tabelle 3b. *Mehrmalige Reizung der Narben von Mimulus sp. nach Begasung mit HCN 2 mg/1 Liter Luft. Die zweite und dritte Reizung erfolgt nach 23 Std.* ÖZ = Öffnungszeit in Minuten. D = Durchschnitt nach ....

Nr.	1. Reizung			2. Reizung			3. Reizung		
	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ	Beginn	Ende	ÖZ
1	12^{49}	13^{35}	46	11^{27}	11^{43}	16	12^{00}	12^{11}	11
2	12^{49}	13^{40}	51	11^{27}	11^{45}	18	12^{00}	12^{20}	20
3	12^{49}	13^{35}	46	11^{27}	11^{42}	15	12^{00}	12^{15}	15
4	12^{49}	14^{00}	71	11^{27}	11^{40}	13	12^{00}	12^{17}	17
5	12^{49}	13^{35}	46	11^{27}	11^{40}	13	12^{00}	12^{13}	13
6	12^{49}	14^{00}	71	11^{27}	11^{49}	22	12^{00}	12^{27}	27
D	1. Reizung 55,1			2. Reizung 16,1			3. Reizung 17,1		

Die 2. und 3. Reizung erfolgte nach 23 Std. Die durchschnittlichen Öffnungszeiten entsprachen der Kontrolle am Vortage. Damit ist eindeutig erwiesen, daß die HCN-Wirkung auf den Restitutionsvorgang der seismonastisch erregbaren Narben von *Mimulus* sp. reversibler Natur ist.

Diskussion

Während die erste Phase der Seismonastie (Zerfallsvorgang) in ihrer Deutung noch völlig hypothetisch ist (vgl. die eingangs zitierten Arbeiten von Bünning), kann man sich über den Restitutionsvorgang nach den Untersuchungen Bünnings, Collas und schließlich auch durch die Ergebnisse unserer Arbeit ein bestimmtes Urteil erlauben.

Nach einer wiederholt vertretenen Vorstellung Bünnings (1930, 1933a) wird durch den Reiz die Vacuolenhaut beeinträchtigt. Der Zellsaft kann in das Plasma eindringen, die semipermeable Vacuolenhaut wird ausgefällt. Während der Restitution wird vor allem die Wasserpermeabilität erhöht, dadurch wird ein Teil der ausgetretenen Flüssigkeit wieder eingesogen.

Bringen wir diese Anschauung mit unseren Untersuchungen über die Wirkung von Atmungsgiften auf die Wasserpermeabilität in Verbindung (v. Guttenberg und Reiff 1957), so wird klar, warum nach Behandlung mit HCN der Restitutionsvorgang der Narben von *Mimulus* sp. verzögert wird. In der vorangegangenen Untersuchung wurde von uns gefunden, daß durch den Einfluß von HCN die Wasserpermeabilität nicht unbedeutend gehemmt wird. Brauner und Mitarbeiter (1940) erreichten durch Sauerstoffentzug dasselbe. Wenn also der Restitutionsvorgang nach Bünning in einer Wiederherstellung der Semipermeabilität im allgemeinen und in einer Erhöhung der Wasserpermeabilität im besonderen besteht, so war zu erwarten, daß Versuche, die die Wasserpermeabilität beeinträchtigen, ebenfalls den Restitutionsvorgang verzögern müßten. Das aber wird durch unsere Versuche bewiesen. Die Atmung wirkt danach über die Wasserpermeabilität auf den Restitutionsvorgang und damit auf die Erhaltung der Reizbarkeit ein. Die Ansicht Bünnings, daß der Restitutionsvorgang unter anderem in einer Erhöhung der Wasserpermeabilität besteht, ist weitaus beweiskräftiger geworden.

Der „Zerfallsvorgang" erwies sich nach den Untersuchungen Bünnings und auch unseren eigenen von der oxydativen Atmung unabhängig.

Zusammenfassung

1. Es wurde der Einfluß von gasförmiger HCN auf den Mechanismus der Narbenbewegung von *Mimulus* sp. untersucht.

2. Die nach der Reizung der Narben eintretende Reaktionsphase erwies sich von der HCN-Wirkung unabhängig. Jedoch wurde die Restitution erheblich verzögert.

3. Entsprechend der Theorie war die HCN-Wirkung reversibel.

4. Da die Atmungsgifte in der Lage sind, die Wasserpermeabilität über die Atmung zu hemmen, wird mit einer Verzögerung des Restitutionsvorganges seismonastisch erregbarer Organe durch HCN die Annahme einer Wiederherstellung der Semipermeabilität im allgemeinen sowie der Wasserpermeabilität im besonderen wahrscheinlich.

Literatur

Brauner, L., M. Brauner u. M. Hasman: The relations between water uptake and oxybiosis in living plant tissues I. Istanbul Univ. fen. Fak. Mecmuasi **5**, H. 3/4 (1940). — Bünning, E.: Untersuchungen über die Seismoreaktionen von Staubgefäßen und Narben. Z. Bot. **1928**, 465—536. — Die Reizbewegungen der Staubblätter von Sparmannia africana. Protoplasma **11**, 49—84 (1930a). — Über die Erregungsvorgänge bei seismonastischen Bewegungen. Planta (Berlin) **12**, 545—574 (1930b). — Über die Reizbewegungen der Staubblätter von Sparmannia africana. Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam **33**, Nr. 3, 1—11 (1930c). Refraktärstadium, Ermüdung und Narkose bei der Seismonastie. Planta (Berlin) **21**, 324—352 (1933a). — Weitere Untersuchungen über die Erregungsvorgänge bei seismonastischen Bewegungen. Flora (Jena) **127**, 119—139 (1933b). — Elektrische Potentialänderungen an seismonastisch gereizten Staubfäden. Planta (Berl.) **22**, 251—268 (1934). — Sauerstoffbedarf und Wärmebildung seismonastisch reizbarer Organe. Planta (Berl.) **23**, 225—239 (1935a). — Die Erregungsvorgänge bei Reizbewegungen vom Mimosatyp. Naturwiss. **23**, 189—194 (1935b). — Über den Restitutionsvorgang bei der seismonastischen Erregung. Flora (Jena) **29**, 416—422 (1935c). — Zur Kenntnis der „kontraktilen Zelle" der Pflanzen. Protoplasma (Wien) **30**, 79—84 (1938). — Colla, S.: Die kontraktile Zelle der Pflanzen. Protoplasma-Monogr. **10**, (1937). — Correns, C.: Über die Abhängigkeit der Reizerscheinungen höherer Pflanzen von Gegenwart freien Sauerstoffes. Flora (Jena) **50**, 87—151 (1892). — Cristalle, W.: Über die Reizerscheinungen der Narben von Mimulus luteus. Bot. Arch. **34**, 115—145 (1932). — Guttenberg, H. v., u. B. Reiff: Über den Einfluß von Atmungsgiften auf Wasserpermeabilität und Wuchsstoffwirkung an den Epidermiszellen von Rhoeo discolor. Protoplasma (Wien) **1957**. — Lutz, C.: Untersuchungen über reizbare Narben. Z. Bot. **3**, 289—348 (1911). — Reiff, B., u. H. v. Guttenberg: Zur Wirkung ungesättigter Laktone auf die Wasserführung der Kartoffel. Protoplasma (Wien) **1957**.

Prof. Dr. H. von Guttenberg, Rostock, Botan. Institut der Universität, Doberaner Str. 143

Planta, Bd. 50, S. 504—525 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DIE REGULATOREN DES STRECKUNGSWACHSTUMS BEI STREPTOCARPUS WENDLANDII UTRECHT UND IHRE VERÄNDERUNGEN WÄHREND DER BLÜHINDUKTION*, **

Von

DIETER HESS

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Oktober 1957)

Einleitung

Trotz intensiver Bearbeitung sind die biochemischen Grundlagen der Blütenbildung noch nicht bekannt. Zwar weist eine Reihe von Befunden auf das Vorhandensein eines spezifisch blüteninduzierenden Faktors hin (Zusammenfassungen MELCHERS und LANG 1948, MELCHERS 1951), doch steht der endgültige Beweis, eine Blüteninduktion durch Extraktübertragung von blühenden auf vegetative Pflanzen, noch aus. Lediglich einmalige, nicht bestätigte Erfolge konnten erzielt werden (BONNER and BONNER 1948, ROBERTS 1951). In letzter Zeit hat man nun versucht, auf andere Weise die biochemischen Vorgänge aufzuklären, die der Blütenbildung zugrunde liegen. Bestimmte Stoffgruppen wurden auf quantitative und qualitative Veränderungen während der Blühinduktion untersucht. (Eine vergleichend-chemische Gegenüberstellung lediglich blühender und vegetativer Pflanzen ist wenig sinnvoll).

Bereits 1924 haben GARNER, BACON und ALLARD die Schwankungen des p_H-Wertes und 1937 HIBBARD die der Fermentaktivität bei *Soja* untersucht. Neuere Arbeiten auf diesem Gebiet befassen sich mit den Veränderungen der Blattproteine (METZNER 1955) und der freien Aminosäuren (MADAN 1956) bei *Kalanchoe* im Laufe der photoperiodischen Induktion.

Von besonderem Interesse in dieser Hinsicht müssen nun die Wuchsstoffe sein. Eine große Zahl von Arbeiten (u. a. THIMANN and LANE

* Auszug aus einer Dissertation der Naturwiss.-mathem. Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

** Herrn Prof. Dr. OEHLKERS schulde ich Dank für die Überlassung des Themas, für seine Unterstützung und sein förderndes Interesse während der Arbeit. Herrn Prof. Dr. POHL habe ich für die Möglichkeit, die biologischen Teste mit seinen Apparaturen durchführen zu können, zu danken; Herrn Doz. Dr. BOPP für Anregung und Kritik. Die Untersuchungen wurden zu einem großen Teil mit Geräten und Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, der hierfür ebenfalls gedankt sei.

1938, HARDER und VAN SENDEN 1949, GALSTON 1947, THURLOW and BONNER 1947, BONNER and THURLOW 1949, v. DENFFER und GRÜNDLER 1950, v. DENFFER 1950, HAMNER and NANDA 1956) befaßt sich mit der Beeinflussung der Blütenbildung durch Applikation von Wuchsstoffen und Wuchsstoffantagonisten. Dagegen liegen kaum Angaben über den nativen Wuchsstoffgehalt während der Blühinduktionsperiode vor. Zwar hat LEOPOLD (1949) gezeigt, daß *Coleus* im Kurztag weniger Wuchsstoff enthält als im Langtag, eine genaue Analyse der Wuchsstoffschwankungen während der photoperiodischen Induktion bei einigen Kurztagpflanzen hat aber erst COOKE (1954) gegeben.

Die unifoliaten Arten der Gattung *Streptocarpus* bieten nun die Möglichkeit, nicht nur die Wuchsstoffschwankungen innerhalb des ganzen Blattes, sondern infolge einer einfach ausführbaren Zonierung innerhalb bestimmter Blattzonen zu untersuchen. Vor allem können die Ergebnisse in Beziehung zu den Blattstecklingsversuchen gesetzt werden, durch die OEHLKERS (1955/56) bei unifoliaten *Streptocarpus*-Arten Bereiche verschiedener Blühwilligkeit und damit verschiedenen Gehaltes an blüteninduzierenden Faktoren nachgewiesen hat.

I. Material und Methoden

(Weitere methodische Angaben im qualitativen und quantitativen Teil)

1. Aussaat und Aufzucht. Alle Untersuchungen erfolgten an *Streptocarpus wendlandii* Utrecht, einer unifoliaten Form. Anfang März wurden Samen der vorjährigen Ernte des hiesigen Botanischen Institutes ausgesät. Die heranwachsenden Pflanzen wurden im Gewächshaus unter den natürlichen Tageslängen bei $+22^0$ gehalten. Nach mehrmaligem Umtopfen erreichten sie gegen Ende August eine Blattlänge von 26 cm, gemessen vom Ansatz der Blattspreite am Hypokotyl bis zur Blattspitze.

2. Extraktion und Aufarbeitung der Wuchs- und Hemmstoffe. Nach einer Reihe von Vorversuchen gelang es mit folgendem Extraktions- und Aufarbeitungsgang, störende Substanzen (Anthocyane, Chlorophylle, Gerbstoffe) auszuschalten und die mit Äther extrahierbaren geringen Wuchsstoffmengen in ein minimales Volumen Testlösung zu überführen:

Als Extraktionsmittel diente Diäthyläther, der nach LARSEN von Peroxyden befreit worden war. Er wurde wenige Stunden nach der Destillation verwendet und bis zu diesem Zeitpunkt bei $+1^0$ und Dunkelheit in verkorkten Flaschen aufbewahrt. Um etwa vorhandene tagesperiodische Schwankungen im Wuchsstoffgehalt zu berücksichtigen, begann die Extraktion stets um 16 Uhr. Das frische, kleingeschnittene Pflanzenmaterial wurde mit dem auf $+1^0$ abgekühlten Äther zwei Minuten lang mit dem Homogenisator der Firma E. Bühler (Tübingen) zerkleinert. Die Mengen waren immer so bemessen, daß auf 1 g Frischmaterial 3 cm^3 Äther entfielen. Homogenisat und Äther wurden gemeinsam in Erlenmeyerkolben abgefüllt, diese mit Kork verstöpselt und im Eisschrank bei $+1^0$ und Dunkelheit aufbewahrt. Nach 15 Stunden wurde die Extraktion abgebrochen. Der ätherische Extrakt wurde vom Ungelösten abfiltriert und auf dem Wasserbad zunächst bis zu einem kleinen Volumen eingeengt, das dann über 5 cm^3 aqua dest. gänzlich abdestilliert wurde. Zu der nunmehr wässerigen Lösung wurden weitere 16 cm^3 aqua dest.

gegeben. Das Ganze wurde noch eine Stunde auf dem abkühlenden Wasserbad belassen, um eine Auslaugung der gebildeten Krusten zu ermöglichen.

Zur weiteren Reinigung wurde folgendes Ausschüttelungsverfahren angewendet: Zu den 21 cm³ des Extractes wurden 9 cm³ 8%iger Natriumbicarbonatlösung gegeben. Von den ungelösten Rückständen wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde 4mal mit je 20 cm³ Äther je 4 min lang ausgeschüttelt. Die ätherischen Phasen wurden vereinigt. Sie bilden die „nicht-saure" Fraktion. Die verbleibende wässerige Phase wurde nach LARSEN mit 5 Tropfen einer 0,02%igen wässerigen Lösung von Methylorange als Indikator versetzt und mit 0,5n Salzsäure bis zu einem p_H von etwa 3 titriert. Dann wurde wie oben mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherischen Phasen bilden die saure Fraktion.

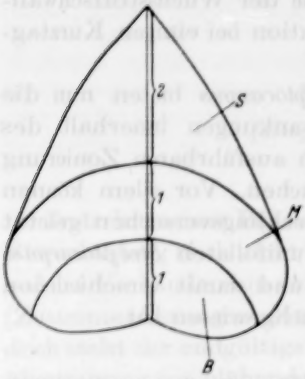


Abb. 1. Schema der Zoneneinteilung des *Streptocarpus*-Blattes. Erklärung im Text

Im weiteren Arbeitsgang wurden je nach der Zielsetzung die nichtsaure und die saure Fraktion entweder vereint und dann gemeinsam aufgearbeitet oder aber getrennt untersucht. In beiden Fällen wurde der Äther auf dem Wasserbad abgedampft. Es verblieben noch einige mm³ wässeriger Lösung, die im Vakuum (Thunbergröhrchen mit Spritzaufsatz) zur Trockne gebracht wurden. Der Rückstand wurde mit 3 cm³ 80%igem Alkohol unter Rühren 5 min lang eluiert, dann wurde von den ungelösten Bestandteilen abzentrifugiert und der gleiche Prozeß noch einmal wiederholt.

Die alkoholischen Eluate wurden gemeinsam im Vakuum zur Trockne eingedampft und danach mit 0,5 cm³ 80%igem Alkohol aufgenommen. Meist blieben noch Spuren eines unlöslichen Rückstandes zurück. Die alkoholische Lösung enthält die Wuchsstoffe und kann chromatographiert werden.

Alle in Alkohol unlöslichen Rückstände wurden in aqua dest. gelöst, vereinigt, gemeinsam im Vakuum zur Trockne gebracht und mit 0,5 cm³ aqua dest. aufgenommen. In dieser wässerigen Lösung befinden sich Substanzen von Eiweißcharakter (s. u.!).

Die gesamte Aufarbeitung fand im Dunkel oder Halbdunkel statt. Die Temperatur des Wasserbades betrug höchstens 60—70°.

3. Papierchromatographie, Papierelektrophorese und Nachweisreaktionen. Angaben in den qualitativen Abschnitten.

4. Der biologische Test. Die auf Wuchs- oder Hemmstoff zu testenden Teile des Chromatogrammes wurden ausgeschnitten und eluiert (genaue Angaben in den qualitativen Abschnitten). 3 cm³ Eluat wurden in ein Esmarchschälchen von 3,5 cm Durchmesser gegeben. Als Test diente der etwas abgeänderte *Avena*-sektionstest nach POHL: Auf Glasrähmchen, die in ihren Dimensionen den Esmarchschälchen entsprachen, wurden jeweils 10 2,5 mm lange Koleoptilzylinder aufgereiht (Aufzucht der Koleoptilen nach POHL). Jedes Rähmchen wurde nach POHL photographiert, in die Testlösung eingelegt und darin beim Wuchsstofftest 24, beim Hemmstofftest 6 Stunden lang belassen. Die Außenbedingungen waren Dunkelheit und + 25°. Nach Abbruch des Testes wurden die Rähmchen erneut photographiert. Die Längenveränderungen der Koleoptilzylinder wurden durch Auswertung der Negative unter dem Mikroskop mittels Okularmikrometer und Gradnetz auf dem Objekttisch festgestellt.

5. Die Zonierung des *Streptocarpus*blattes. Bei der Ausführung quantitativer Analysen wurde das *Streptocarpus*-Blatt in 3 Zonen eingeteilt (Abb. 1). Künftig

soll die basale Zone als B, die mittlere als M, die apikale als S bezeichnet werden. Die Zahlen in Abb. 1 geben die relativen Längen der auf die einzelnen Zonen entfallenden Abschnitte der Mittelrippe an. Die Zonierung folgt bestimmten natürlichen Gegebenheiten: B setzt sich bei allen wachsenden Blättern als deutlich hellgrüner Bereich vom übrigen dunkelgrünen Blatt ab; B und M liefern bei Anwendung der Blattstecklingsmethode (OEHLKERS 1955/56) alle überhaupt zur Blüte gelangenden Stecklinge, während man aus S nur Stecklinge gewinnen kann, die bestenfalls noch eine geringe vegetative Regenerationsleistung aufweisen.

6. Die Zahl der Analysen. Alle Analysen wurden — von einigen wenigen Ausnahmen abgesehen — mindestens zweimal ausgeführt. Von den qualitativen Analysen wird hier je ein typisches Beispiel mitgeteilt; die Daten über quantitative Analysen sind Mittelwerte. — Die Zahl der zu einer Analyse verwendeten *Streptocarpus*exemplare betrug bei den jüngeren Entwicklungsstadien 50—100, bei den Pflanzen von 26 und mehr cm Blattlänge 5—6. Individuelle Verschiedenheiten können so kaum in Erscheinung treten.

II. Qualitativer Teil

A. Qualitative Wuchsstoffanalysen

1. Die Papierchromatographie der Wuchsstoffe. Zu allen qualitativen und quantitativen Untersuchungen wurde der durch den oben erwähnten Aufarbeitungsgang gewonnene alkoholische Wuchsstoffextrakt noch weiter papierchromatographisch aufgetrennt.

Die Wuchsstofflösung wurde als 4 cm langer Streifen auf die vom unteren Rand des Bogens 5 cm entfernte Startlinie aufgetragen. Die Trennung erfolgte aufsteigend auf der Papiersorte 2043b Mgl der Firma Schleicher und Schüll mit dem Lösungsmittelsystem Isopropanol-Ammoniak (0,89)-Wasser (10:1:1). Stets wurde auf dem gleichen Bogen neben dem Extrakt noch ein zum chemischen Test ausreichendes Quantum IES chromatographiert und zwar, da die R_f-Werte weitgehend durch die Begleitsubstanzen beeinflußt werden, immer zusammen mit einer geringen Menge *Streptocarpus*extrakt. Nach Trocknen der Chromatogramme wurde die IES durch Besprühen mit $FeCl_3/HClO_4$ (Zusammensetzung nach SEN) lokalisiert.

2. Die biologische Auswertung der Wuchsstoffchromatogramme. Nichtsaure und saure Fraktion wurden gemeinsam chromatographiert. Die der Lage der IES im Vergleichsstreifen entsprechende Zone des Extraktstreifens wurde markiert. Eine weitere Unterteilung des Chromatogrammes erfolgt nach Fluorescenz-Zonen im UV-Licht. Die einzelnen Abschnitte wurden ausgeschnitten und mit 3 cm^3 aqua dest. 24 Stunden lang bei Dunkelheit und 25° eluiert. In einem weiteren Ansatz wurde ein gleich großes Leerstück aus dem gleichen Chromatogramm ganz entsprechend eluiert. Nach 24 Stunden wurden die Papierstücke entfernt und der biologische Test angesetzt. Auf gleiche Weise wurden Chromatographie, Elution und biologischer Test bei allen Wuchsstoffanalysen durchgeführt.

Die biologische Auswertung eines solchen Wuchsstoffchromatogrammes führt zu folgendem Ergebnis (Abb. 2): Zwei Bereiche deutlicher Wachstumsförderung, die sich auch bei der Auswertung weiterer Chromatogramme stets feststellen ließen, sind erkennbar. Die hier an der Basis des Chromatogrammes vorhandene geringe Hemmung ließ sich dagegen nicht sichern.

3. Die qualitative Analyse der Wuchsstoffe. Im folgenden sind nacheinander die Analysendaten für die beiden Wuchsstoffe aufgeführt.

Wuchsstoff 1 (mit dem niederen R_f-Wert):

a) *Der R_f-Wert* stimmt in allen Fällen mit dem synthetischer IES überein, die auf dem gleichen Bogen mit etwas Extrakt neben der Ana-

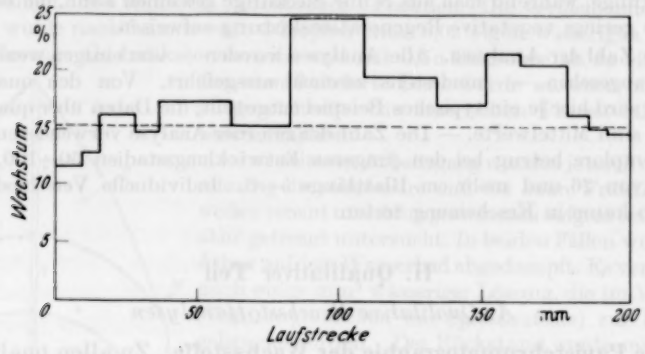


Abb. 2. Graphische Auswertung eines Wuchsstoffchromatogrammes. Ordinate: Wachstum der Koleoptilsektionen in %. Abszisse: Länge des Chromatogrammes. ------: Wachstum der Koleoptilsektionen in der Wasserkontrolle

lysenlösung chromatographiert wurde. Er lag meistens etwas höher als der theoretische R_f von 0,37 (SEN 1955).

b) Eine *Fluorescenz* der Chromatogrammzone mit Wuchsstoffwirkung war unter der Quarzanalysenlampe (Hanau, etwa 360 mμ) nicht festzustellen, was mit dem Verhalten synthetischer IES übereinstimmt.

c) Beide Fraktionen wurden getrennt chromatographiert, um die *Verteilung* der Wuchsstoffe zwischen der nicht-sauren und der sauren Fraktion festzustellen. Der biologische Test zeigte, daß sich Wuchsstoff 1 wie IES in der sauren Fraktion anreicherte (Tabelle 1).

Tabelle 1. *Die Verteilung der Streptocarpus-Wuchsstoffe auf die nicht-saure und die saure Fraktion*

Nicht-saure Fraktion		Saure Fraktion	
Wachstum der Koleoptilsektionen in % in			
aqua dest. . .	12,06	aqua dest. . .	12,06
Wuchsstoff 1 .	16,20	Wuchsstoff 1 .	24,88
Wuchsstoff 2 .	14,91	Wuchsstoff 2 .	20,84

d) *Der chemische Test.* Eine Extraktmenge, die aus 300 g Frischmaterial gewonnen worden war, wurde chromatographiert. Nach Besprühen mit $FeCl_3/HClO_4$ konnte in der Zone des Wuchsstoffes 1 eine leichte Rotfärbung festgestellt werden, wie sie für IES charakteristisch ist.

e) *Die Papierelektrophorese.* Die Elektrophorese wurde nach den Angaben von FISCHER mit dem Elphor H nach GRASSMANN ausgeführt. Papier: 2043b Mgl Schl. & Sch., 110 V, n/15 Phosphatpuffer p_H 7,0; Dunkelheit und Zimmertemperatur; Trennungszeit 5 Stunden; Wuchsstoffmenge: beide Fraktionen aus 50 g Frischmaterial.

Nach der Elektrophorese wurden die Streifen bei Zimmertemperatur und Dunkelheit getrocknet und dann die IES auf einem Vergleichsstreifen lokalisiert. Das Pherogramm mit dem Wuchsstoffextrakt wurde nach Lage der mutmaßlichen IES und Fluorescenz in Streifen zerlegt. Elution dieser Streifen und biologischer Test erfolgten wie üblich. Die Auswertung zeigt Abb. 3.

Auch papierelektrophoretisch verhält sich also der Streptocarpus-wuchsstoff 1 wie IES. Es ist demnach der Schluß berechtigt, daß es sich bei Wuchsstoff 1 um IES handelt.

Wuchsstoff 2 (mit dem höheren R_f-Wert):

Jede der folgenden Analysen gibt für sich betrachtet noch keinen eindeutigen Hinweis auf den chemischen Charakter des Wuchsstoffes 2.

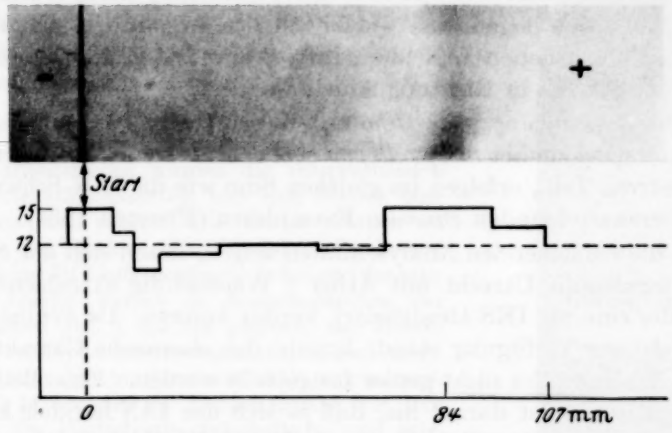


Abb. 3. Graphische Auswertung eines Wuchsstoff-Elektropherogrammes. Oben Vergleichsstreifen mit IES. Sonst wie Abb. 2

Berücksichtigt man aber die Ergebnisse aller Analysen, so lassen sich die Eigenschaften des Wuchsstoffes 2 am ehesten mit denen des Indolacetonitrils (IAN) vergleichen.

a) *Der R_f-Wert* beträgt bei Chromatographie der nicht-sauren Fraktion annähernd 0,89; bei Chromatographie der sauren Fraktion, die weniger Begleitsubstanzen an der Front aufweist, 0,97. Der für IAN unter den gegebenen Bedingungen zu fordernde R_f-Wert beträgt 0,99 (Sen 1955).

b) *Die Fluorescenz* im UV-Licht ist schwach dunkel-grünlich. Die Fluorescenz des IAN wird von Sen als grünblau angegeben.

c) *Die Verteilung* auf die nicht-saure und saure Fraktion: Auch Wuchsstoff 2 findet sich hauptsächlich in der sauren Fraktion (Tabelle 1), allerdings ist der Unterschied zur nicht-sauren Fraktion nicht so ausgeprägt wie bei Wuchsstoff 1. Die Literaturangaben über die Verteilung des IAN zwischen den beiden Fraktionen divergieren, so daß daraus kein eindeutiger Hinweis gewonnen werden kann. Jones, Henbest,

Smith und Bentley finden in der sauren Fraktion nur wenig IAN, während nach Bennet-Clark und Kefford auch in der sauren Fraktion IAN in sogar für den chemischen Test ausreichenden Mengen vorliegt. Möglicherweise spielt hier Art und Menge der Begleitsubstanzen eine Rolle.

d) *Der chemische Test.* Nach einer Anreicherung wie unter d) bei Wuchsstoff 1 ergab Besprühen mit $FeCl_3/HClO_4$ eine grünbraune Färbung, die allerdings in Frontnähe bei der großen Menge der nach der Anreicherung mitlaufenden Substanzen nicht sehr signifikant erscheint. Immerhin soll IAN nach Sen eine grüne Färbung ergeben.

e) Nach der *papierelektrophoretischen Auftrennung* bleibt Wuchsstoff 2 an der Startstelle liegen, was wieder mit den Angaben Fischers übereinstimmt, nach denen IAN auch nach 8 Stunden Elektrophorese nur eine kleine Strecke in Richtung Anode wandert.

f) Die *Schwankungen im Gehalt* an Wuchsstoff 2, die während der Vegetationsperiode bei *Streptocarpus* beobachtet werden konnten (s. im quantitativen Teil), erfolgen im gleichen Sinn wie die IAN-Schwankungen in heranwachsenden *Brassica*-Exemplaren (Fischer 1954).

Wie die vorstehenden Analysendaten zeigen, lassen sich aus *Streptocarpus wendlandii* Utrecht mit Äther 2 Wuchsstoffe extrahieren, von denen der eine als IES identifiziert werden konnte. Da synthetisches IAN nicht zur Verfügung stand, konnte der chemische Charakter des zweiten Wuchsstoffes nicht genau festgestellt werden. Eine Reihe von Analysendaten weist darauf hin, daß es sich um IAN handeln könnte. Im folgenden soll diese Substanz weiterhin als Wuchsstoff 2 bezeichnet werden.

B. Qualitative Hemmstoffanalysen

1. Papierchromatographie und Nachweisreaktionen auf Eiweißsubstanzen aus *Streptocarpus*extrakten. Alle in 80%igem Alkohol unlöslichen Rückstände des Aufarbeitungsganges wurden vereinigt. Vor Überprüfung auf physiologische Aktivität erfolgte noch eine papierchromatographische Auftrennung. Der in aqua dest. gelöste Rückstand wurde dazu in n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) chromatographiert. Die Lösung wurde in 4 cm langen Streifen auf der Startlinie aufgetragen. Nach der Chromatographie konnten auf dem Papier Substanzen nachgewiesen werden, die auf Ninhydrin und Natrium-Naphthochinonsulfonat schwach positiv reagierten.

Ninhydrin-Reagens: 0,5% Ninhydrin in 7 cm^3 Eisessig und 93 cm^3 n-Butanol.

Natrium-Naphthochinonsulfonat: Zusammensetzung nach Turba 1954. Am empfindlichsten erwies sich jedoch die Hydrolysenmethode nach Porath und Flodin (1951).

Empirisch ermittelte optimale Zusammensetzung: auf 50 cm^3 96%igen Alkohol 0,4 cm^3 16%ige H_2SO_4 und 100 mg Resorcin. Nach Besprühen mit diesem Reagens wurde bis zu dem Einsetzen der Rotfärbung bei 110—120° erhitzt.

Auf den Chromatogrammen ließen sich eindeutig zwei puffernde Zonen erkennen, die mit den Ninhydrin- und Natrium-Naphthochinon-positiven Bereichen identisch waren (Abb. 4). Die R_f-Werte betrugen bei absteigender Chromatographie auf Schl. & Sch. 2043 b Mgl durchschnittlich 0,09 und 0,31. Unter dem Flecken mit dem niedrigeren R_f-Wert waren noch Spuren puffernder Substanz feststellbar. Die Substanz mit dem R_f 0,31 soll künftig auf Grund ihrer physiologischen Aktivität (s. u.) als Faktor B bezeichnet werden.

Abb. 4. Chromatogramm von Eiweißsubstanzen aus *Streptocarpus*. n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) absteigend; Resorcin-H_2SO_4. Oben Faktor B

2. Aminosäurenhydrolyse. Den endgültigen Beweis dafür, daß es sich bei den erwähnten Substanzen um Stoffe mit Eiweißcharakter handelte, erbrachte die Hydrolyse auf Aminosäuren.

Die puffernden Zonen wurden auf Vergleichsstreifen mit Resorcin/H_2SO_4 sichtbar gemacht. Aus den Analysenstreifen wurden die entsprechenden Abschnitte ausgeschnitten und eine Stunde lang mit aqua dest. eluiert. Die Eluate wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand mit 20%iger HCl aufgenommen. Je 0,5 cm³ der salzsauren Lösung wurden in Reagensgläschen der Dimensionen 0,7 × 6,5 cm gegeben, zur Herabsetzung von Hydrolysenverlusten mit 0,5 cm³ Amylalkohol überschichtet (Metzner 1955), zugeschmolzen und 24 Stunden im Trockenschrank auf 105° erhitzt. Die Hydrolysate (alkoholische und salzsaure Phase) wurden im Vakuum zur Trockne gebracht, mit aqua dest. aufgenommen und wieder zur Trockne eingeengt. Dieser Prozeß wurde noch einmal wiederholt, dann konnte der Rückstand mit einigen Tropfen aqua dest. aufgenommen und chromatographiert werden. Chromatographiepapier: Schl. & Sch. 2043 b Mgl. Lösungsmittel: eindimensional n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) ab- und aufsteigend, zweidimensional n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) oder sek. Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:13:12) mit Methyläthylketon-Pyridin-Wasser (70:15:15) nach Turba 1954. Stets wurden Vergleichssubstanzen mitchromatographiert. Entwickeln der Chromatogramme mit Ninhydrin, selten mit Natrium-Naphthochinonsulfonat.

Über die Substanz mit dem R_f-Wert von 0,09 sei hier nur mitgeteilt, daß auch ihre qualitative Aminosäurenzusammensetzung ermittelt werden konnte. Faktor B enthält, nach steigendem R_f-Wert in n-Butanol-Eisessig-Wasser geordnet, folgende Aminosäuren: Cystein/Cystin, Lysin, Asparaginsäure, Glycin, Glutaminsäure, Threonin, Alanin, Prolin, Valin und Leucin. Auffallend ist das Fehlen aller Ringsysteme mit Ausnahme des Prolins. Allerdings ist es bei den geringen Ausgangsmengen möglich, daß noch die eine oder andere Aminosäure in Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze vorliegt.

3. Relative Mengenangaben. Bei allen folgenden Analysen wird diejenige Frischgewichtsmenge angegeben, aus der die betreffende Quantität an Faktor B gewonnen wurde.

4. Überprüfung auf Einheitlichkeit. a) Das *UV-Absorptionsspektrum* von Faktor B ist aus Abb. 5 zu ersehen. Nach papierchromatographischer Auftrennung wurde die betreffende Zone eine Stunde lang mit aqua dest. eluiert. Die Extinktion der Eluate gegenüber aqua dest. wurde mit dem Spektralphotometer PMQ II der Firma Carl Zeiss gemessen. Es ergab sich eine Kurve mit einem scharfen Maximum bei 270 mμ.

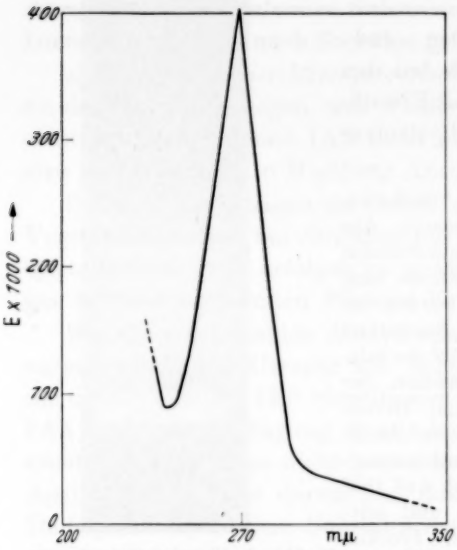


Abb. 5. UV-Absorptionsspektrum von Faktor B. Konzentration: 1 g Frischgewicht/cm³

b) Ebensowenig wie das Absorptionsspektrum gibt die Betrachtung der Chromatogramme im *UV-Licht* (360 mμ) einen Hinweis auf etwa mit Faktor B assoziierte andere organische Substanzen. Bis auf eine geringe Fluorescenz der Polypeptide, die wie üblich durch Erhitzen auf 105° gesteigert werden konnte, waren die Chromatogramme optisch leer.

c) Auch bei der *Papierelektrophorese* (Dauer 5 Stunden, sonstige Bedingungen wie bei der Elektrophorese der Wuchsstoffe) wandert Faktor B zur Anode, ohne sich weiter aufzutrennen. Die Lokalisation auf dem gepufferten Papier erfolgte durch Erhitzen auf 105° und anschließendes Betrachten im UV-Licht oder mit Natrium-Naphthochinonsulfonat.

Es scheinen demnach auf dem Chromatogramm im Bereich des Faktors B keine weiteren organischen Verbindungen vorhanden zu sein. Dagegen trat eine Komplikation dadurch auf, daß auf dem Chromatogramm Natrium-Ionen nachgewiesen werden konnten, die aus der beim Ausschütteln verwandten Natrium-Bicarbonatlösung stammen. Die Natrium-Ionen liegen im oberen Teil der Faktor B-Zone und lassen sich in Butanol-Eisessig-Wasser nicht abtrennen. Doch ließ sich nachweisen, daß die auf diese Weise mit Faktor B in die Testlösungen eingebrachten geringen Natriummengen im biologischen Test wirkungslos bleiben. Von zwei Testlösungen bestand die eine aus Grundlösung mit 0,1 mg IES/l. In den zweiten Testansatz war im Blindversuch noch soviel Natrium eingebracht worden, wie bei der Elution von Faktor B maximal in die

Testlösung gelangen konnte. Die Grundlösung (s. u.) war 0,01 m an Dinatriumphosphat, die zweite Lösung enthielt darüber hinaus noch eine 0,01 m Natriumbicarbonat entsprechende Menge an Natrium-Ionen. Ein Wachstumsunterschied der Koleoptilsektionen in den beiden Ansätzen war auch nach 24 Stunden nicht zu bemerken.

5. Biologische Teste. Faktor B wirkt im Koleoptilsektionstest wachstumshemmend.

Die Hemmung des Streckungswachstums konnte auch in aqua dest. und n/100 Acetatpuffer vom p_H 5 nachgewiesen werden, doch wurde im weiteren Analysengang stets folgendes Medium (nach SEN) verwandt: Auf 2 cm³ aqua dest. kamen 0,5 cm³ folgender Lösung: 0,0125 m $CaSO_4$ mit Zusatz von 5% Saccharose und 50% McIlvain-Puffer p_H 5 (0,1 m Citronensäure + 0,2 m Dinatriumphosphat; 9,7:10,3). Diese Grundlösung enthielt in den meisten Fällen noch IES in den jeweils angegebenen Konzentrationen; mit ihr wurde Faktor B eine Stunde lang bei Zimmertemperatur vom Chromatogramm eluiert. In allen Vergleichslösungen ohne Faktor B war ein Leerstück aus demselben Chromatogramm ganz entsprechend eluiert worden. Nach der Elution wurde der biologische Test in üblicher Weise angesetzt. Da sich manchmal schon nach 24 Stunden bakterielle Infektionen bemerkbar machten, wurde der Test bereits nach 6 Stunden abgebrochen.

Wie Tabelle 2 zeigt, wird Faktor B in seiner Wirkung von der Zusammensetzung des Testmediums nur wenig beeinflußt. Bei der gegebenen Konzentration an Faktor B kann weder Saccharose noch IES für sich die Hemmung beeinträchtigen. IES in Verbindung mit Saccharose dagegen hebt die Hemmung zwar nicht auf, vermag sie aber immerhin abzuschwächen.

Tabelle 2. *Das Wachstum der Koleoptilsektionen in Anwesenheit von Faktor B bei wechselnder Zusammensetzung des Testmediums*

Zusammensetzung des Testmediums	Wachstum in %
Grundlösung ohne Saccharose	10,28
Faktor B + Grundlösung ohne Saccharose	8,64
IES + Grundlösung ohne Saccharose	13,37
Faktor B + IES + Grundlösung ohne Saccharose	8,92
Grundlösung mit Saccharose	12,80
Faktor B + Grundlösung mit Saccharose	7,90
IES + Grundlösung mit Saccharose	19,34
Faktor B + IES + Grundlösung mit Saccharose	12,26

IES-Konzentration = 0,1 mg/l; Faktor B-Konzentration = 3 g Frischgew./cm³.

Um nun zu überprüfen, ob es sich tatsächlich um eine hemmende und nicht etwa um eine fördernde Substanz in überoptimalen Konzentrationen handelte, wurden Verdünnungsreihen des Faktors B hergestellt und getestet. Ein fördernder Konzentrationsbereich wurde nie gefunden. Den Ausfall des biologischen Testes innerhalb einer solchen Verdünnungsreihe zeigt Tabelle 3. Es handelt sich demnach bei Faktor B tatsächlich um einen Hemmstoff.

Wie Tabelle 2 zeigt, vermag IES in Anwesenheit von Saccharose die Hemmung durch Faktor B z. T. aufzuheben. Wie nun Abb. 6 zeigt, wird in der Tat die Hemmung durch eine gegebene Menge an Faktor B immer geringer, je höher die IES-Konzentration ist. Besonders deutlich wird die Hemmung dann beeinflußt, wenn die IES in sonst bereits überoptimalen Mengen vorliegt (Abb. 6 rechts oben). Der Verlauf der Kurven ist von der Konzentration an Faktor B stark abhängig. So war z. B. das Wachstum bei nur geringen Mengen an Faktor B und bei der überoptimalen IES-Konzentration von 10 mg/l in der Lösung mit IES und Faktor B sogar etwas besser als in der Lösung mit IES, aber ohne Faktor B.

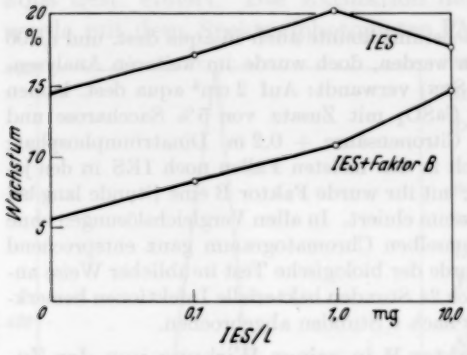


Abb. 6. Wachstum der Koleoptilsektionen bei gleicher Menge an Faktor B (6 g Frischgewicht/cm³) und steigender IES-Konzentration

Wie die vorstehenden Daten zeigen, kann also aus *Streptocarpus wendlandii* Utrecht mittels Äther ein Polypeptid extrahiert werden, das sich nach Passage durch den geschilderten Aufarbeitungsgang in dem von uns verwandten *Avena*-Test als Hemmstoff des Streckungswachstums erweist.

III. Quautitativer Teil

A. Quantitative Wuchsstoffanalysen

1. Methodik. Die aus *Streptocarpus* extrahierbaren Wuchsstoffmengen sind zu gering, um in Serienuntersuchungen die Aufstellung absoluter Werte zu ermöglichen. Je nach Entwicklungszustand und Blattzone schwankt der Gehalt an IES zwischen eben noch nachweisbaren Mengen und maximal 2 γ/100 g Frischgewicht. Um nun vergleichbare relative Werte zu erhalten, wurde folgendermaßen verfahren:

Extraktion, Aufarbeitung und biologischer Test wurden streng standardisiert beibehalten. Auf das Papierchromatogramm wurde stets eine 20 g Frischgewicht entsprechende Extraktmenge aufgetragen und dann im biologischen Test das Wachstum festgestellt, das die in diesen 20 g enthaltenen Wuchsstoffmengen hervorriefen. Die Zuwachsprozentsätze wurden errechnet und dann auf Wachstum in aqua dest. = 100 bezogen. In den Schälchen mit aqua dest. war ein Leerstück aus dem gleichen Chromatogramm eluiert worden. Der Test wurde nach 24 Stunden abgebrochen. In parallel laufenden Arbeitsgängen wurden alle drei Blattzonen (s. Abb. 1) im Rahmen eines Analysenganges untersucht.

2. Die Wuchsstoffveränderungen im Laufe der vegetativen Entwicklung. Folgende Punkte sollen bei den Wuchsstoffveränderungen im

Laufe der vegetativen Entwicklung hervorgehoben werden (Abb. 7): In allen Entwicklungsstadien stärkeren Wachstums ist ein IES-Gefälle von der Basis, die ja bei den unifoliaten *Streptorcarpus*-Formen die meristematische Zone enthält, zur Spitze hin zu beobachten. Im Winterhalbjahr ist das Wachstum von *Streptocarpus* nahezu erloschen, die Differenzen zwischen den einzelnen Blattzonen verwischen sich durch Absinken des IES-Gehaltes in dem basalen meristematischen Teil. Überhaupt geht der Gehalt an IES in der Basis des Blattes nahezu parallel mit der Intensität des Längenwachstums der Pflanze. Wuchsstoff 2 zeigt in den Sommermonaten ein Maximum, wobei ein gleiches Gefälle wie bei der IES von der Basis zur Spitze hin auftritt. Auch hier erfolgt gegen den Winter hin ein extremer Abfall bis zum völligen Verschwinden Anfang Januar.

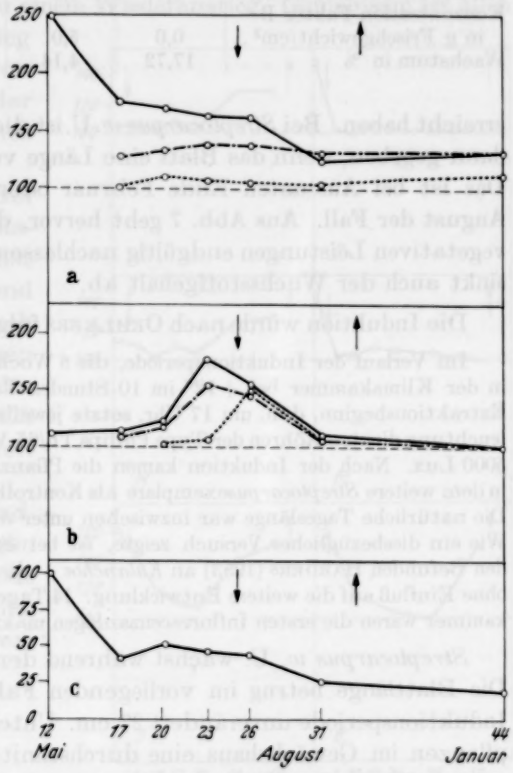


Abb. 7 a—c. Die Wuchsstoffschwankungen im Laufe der vegetativen Entwicklung in den einzelnen Blattzonen. a Wuchsstoff 1 = IES; b Wuchsstoff 2; c Längenwachstum des *Streptocarpus*-Blattes. Abszisse: Wochen nach Aussaat. Ordinate: in a und b Wachstum der Koleoptilen in % des Wachstums der Wasserkontrolle, in c Längenwachstum des *Streptocarpus*-Blattes in %/Woche. o——o = B; o·—·—o = M; ----- = Wasserkontrolle; o·····o = S; Pfeil aufwärts und Pfeil abwärts: Ende und Beginn der Blühinduktion bei Parallelserien

Für den chemischen Charakter von Wuchsstoff 2 ist es von Wichtigkeit, daß FISCHER bei *Brassica* für IAN einen ähnlichen Kurvenverlauf festgestellt hat. Überdies nimmt bei *Brassica* mit dem Übergang in die reproduktive Phase die Konzentration an IAN ebenso wieder zu wie bei *Streptocarpus* die an Wuchsstoff 2.

3. Die Wuchsstoffveränderungen während der Blühinduktion. *a) Induktionsbedingungen, Verhalten von Streptocarpus wendlandii Utrecht während und nach der Induktion.*

Eine Blühinduktion kann i. A. erst dann mit Erfolg durchgeführt werden, wenn die Pflanzen einen bestimmten Entwicklungszustand

Tabelle 3. *Das Wachstum der Koleoptilsektionen in Abhängigkeit von der Konzentration an Faktor B*

Konzentration IES in mg/l	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Konzentration Faktor B in g Frischgewicht/cm³ .	0,0	5,0	1,0	0,5	0,05
Wachstum in %	17,72	4,14	13,47	15,07	17,82

erreicht haben. Bei *Streptocarpus w.* U. ist diese Blühreife nach OEHLKERS dann gegeben, wenn das Blatt eine Länge von ungefähr 30 cm aufweist. Das ist bei Aussaaten Ende Februar oder Anfang März gegen Ende August der Fall. Aus Abb. 7 geht hervor, daß zu diesem Zeitpunkt die vegetativen Leistungen endgültig nachlassen. Im Zusammenhang damit sinkt auch der Wuchsstoffgehalt ab.

Die Induktion wurde nach OEHLKERS folgendermaßen vorgenommen:

Im Verlauf der Induktionsperiode, die 8 Wochen betrug, wurden die Pflanzen in der Klimakammer bei $+12^0$ im 10-Stunden-Tag gehalten. Eine Stunde nach Extraktionsbeginn, d. h. um 17 Uhr, setzte jeweils die Dunkelphase ein. Zur Beleuchtung dienten Röhren der Type Philips TL/65 W/34. Die Lichtintensität betrug 5000 Lux. Nach der Induktion kamen die Pflanzen in das Gewächshaus zurück, in dem weitere *Streptocarpus*exemplare als Kontrolle bei 22^0 belassen worden waren. Die natürliche Tageslänge war inzwischen unter die 14-Stunden-Grenze gesunken. Wie ein diesbezüglicher Versuch zeigte, ist bei *Streptocarpus* — im Gegensatz zu den Befunden HARDERS (1953) an *Kalanchoe* — die Tageslänge nach der Induktion ohne Einfluß auf die weitere Entwicklung. 14 Tage nach Entnahme aus der Klimakammer waren die ersten Inflorescenzanlagen makroskopisch zu erkennen.

Streptocarpus w. U. wächst während der 8 Induktionswochen nicht. Die Blattlänge betrug im vorliegenden Fall zu Beginn und Ende der Induktionsperiode unverändert 27 cm. Unterdessen hatten die Kontrollpflanzen im Gewächshaus eine durchschnittliche Länge von 33 cm erreicht. Dieser Vorsprung wurde von den induzierten Pflanzen jedoch innerhalb weniger Wochen eingeholt. Denn sofort nach Wiedereinbringen in das Gewächshaus setzt eine lebhafte Tätigkeit der basalen Meristeme ein, die sich auch dem bloßen Auge als eine starke Wellung der basalen Spreitenpartien bemerkbar macht. Noch vor dem Abklingen dieses Wachstumsstoßes erscheinen die Inflorescenzanlagen, die bis zu einer Höhe von ca. 50—60 cm emporwachsen. Zu der ersten Inflorescenz gesellen sich meist einige weitere von geringerer Höhe in serialer Anordnung. Bei Induktionsabschluß Ende Oktober öffneten sich die ersten Blüten Anfang Januar.

b) *Die Wuchsstoffveränderungen während der Induktion* (Abb. 8). *IES:* In der Mitte und Spitze (M und S) des Blattes ist vor Beginn und während der ersten Wochen der Induktion wenig oder so gut wie kein Wuchsstoff vorhanden. Von der vierten Woche an steigt der IES-Gehalt auf ungefähr gleiche Werte in M und S an.

Die Basis (B) des *Streptocarpus*-Blattes weist vor Beginn der Induktion ein noch relativ hohes IES-Niveau auf. Im Verlauf der ersten Wochen kommt es zu einem starken Absinken des Wuchsstoffspiegels, von der vierten Woche an zu einem Wiederanstieg. Gemeinsam ist allen drei Blattzonen ein Anstieg des Wuchsstoffgehaltes von der vierten Woche an, in der Basis nach Durchlaufen eines Minimums.

Wuchsstoff 2: In allen drei Blattzonen sinkt die Wuchsstoffkonzentration zunächst ab. In S und M treten während der Induktionsperiode auch keine nennenswerten Mengen mehr auf, in B kommt es dagegen wie im Falle der IES gegen Ende der Induktionszeit zu einem Wiederanstieg.

Bei *Streptocarpus wendlandii* Utrecht ist also gegen Mitte der Induktionsperiode aus allen drei Blattzonen nahezu kein Wuchsstoff extrahierbar.

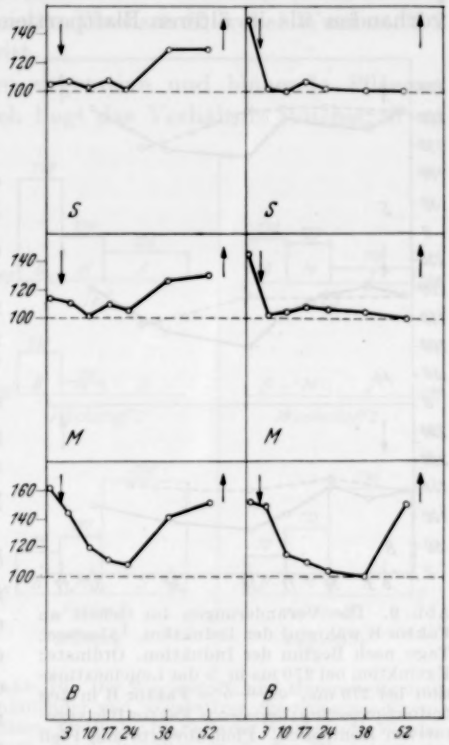


Abb. 8. Die Wuchsstoffveränderungen während der Induktion. Abszisse: Tage nach Beginn der Induktion. Ordinate: Wachstum der Koleoptilen in % des Wachstums der Wasserkontrolle. Linke Reihe: Wuchsstoff 1 = IES; rechte Reihe = Wuchsstoff 2. Pfeil abwärts und Pfeil aufwärts = Beginn und Ende der Induktion. – – – – = Wasserkontrolle; o——o = Wuchsstoff (IES bzw. Wuchsstoff 2)

B. Quantitative Analyse des Faktors B

1. Methodik. Der übliche Extraktions- und Aufarbeitungsgang wurde beibehalten. Wie bei den Wuchsstoffen, so können auch hier bei Faktor B nur relative Mengenangaben gemacht werden. Stets wurde eine 5 g Frischgewicht entsprechende Menge an Faktor B nach papierchromatographischer Auftrennung zur Messung verwendet. Um etwaige Differenzen in der Lösungsmittelzusammensetzung, der Qualität der Papierbogen etc. zu berücksichtigen, liefen auf dem gleichen Bogen 10 γ Leucin mit, die ebenfalls eluiert wurden. In Faktor B-Lösung wie in der Leucinlösung wurde die Extinktion bei 270 mμ gegenüber aqua dest. gemessen. Die Extinktion des Faktors B wurde in % der Leucinextinktion angegeben. Auch hier wurden alle 3 Blattzonen nebeneinander untersucht.

Daß der für die qualitativen Analysen verwendete Aufarbeitungsgang auch zur Ausführung quantitativer Analysen herangezogen werden kann, geht daraus hervor, daß bei strenger Standardisierung aus entsprechenden Blattzonen gleicher

Entwicklungsstadien von *Streptocarpus* annähernd gleiche Mengen an Faktor B gewonnen werden können. Die Schwankungen um den aus mehreren Analysen errechneten Mittelwert betrugen bis zu $\pm 10\%$.

2. Die Veränderungen im Gehalt an Faktor B während der Induktionsperiode (Abb. 9). Stets ist in der Basis des Blattes weniger Faktor B vorhanden als in älteren Blattpartien. Es ist das nicht nur während der Induktion, sondern in allen untersuchten Blättern vegetativer und blühender Pflanzen der Fall.

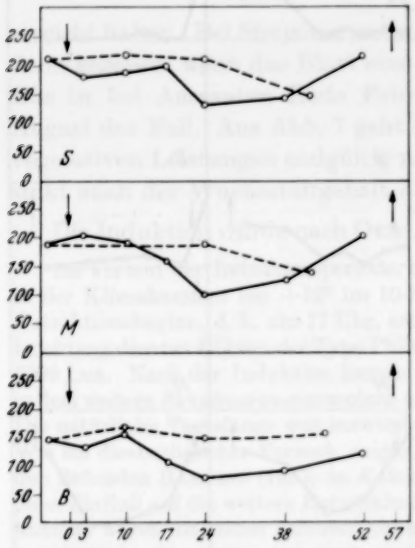


Abb. 9. Die Veränderungen im Gehalt an Faktor B während der Induktion. Abszisse: Tage nach Beginn der Induktion. Ordinate: Extinktion bei 270 mμ in % der Leucinextinktion bei 270 mμ. o——o = Faktor B in den Induktionsserien; o– – –o = Faktor B in vegetativen Kontrollen. Pfeil abwärts und Pfeil aufwärts = Beginn und Ende der Induktion

a) *Vegetative Kontrollen.* In der Spitze und der Mitte des Blattes sinkt der Hemmstoffgehalt allmählich ab. In der Basis bleibt er während der Induktionszeit zwar noch auf gleicher Höhe, nimmt dann aber auch geringere Werte an (Abb. 10). Das Absinken des Hemmstoffgehaltes geht dem Absinken des Wuchsstoffgehaltes gegen Jahresende parallel (vgl. Abb. 7, 9, 10).

b) *Pflanzen unter Induktionsbedingungen.* Nach anfänglichen geringen Schwankungen sinken die Kurven für Faktor B in allen drei Blattzonen gleichzeitig zu einem Minimum ab, das zeitlich mit dem Wuchsstoffminimum zusammenfällt (vgl. Abb. 8). In der zweiten Hälfte der Induktionsperiode kommt es in der Mitte und der Spitze des Blattes zu einem Wiederanstieg ungefähr auf die Ausgangswerte, in der Basis lediglich zu einer leichten Hebung. Während der Blühinduktion findet sich demnach eine weitgehende Übereinstimmung in den Veränderungen des Wuchsstoff- und Hemmstoffgehaltes. Eine wichtige Ausnahme macht die Basis des Blattes, in der einem starken Wuchsstoffanstieg in den letzten Induktionswochen ein nur geringer Hemmstoffanstieg gegenübersteht.

C. Wuchsstoff- und Hemmstoffgehalt blühender und vegetativer Streptocarpus-Exemplare (Abb. 10)

Es wurden Pflanzen der gleichen Aussaat miteinander verglichen, von denen die einen nie unter induktive Bedingungen gekommen waren und deshalb rein vegetativ blieben, während die anderen eine Induktion

hinter sich hatten und eben aufgeblüht waren. An Wuchsstoffen ist in den vegetativen Exemplaren nur noch IES vorhanden. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Zonen sind gering, doch ist noch immer ein Abfall von der Basis zur Spitze festzustellen.

In den blühenden Exemplaren finden sich IES und Wuchsstoff 2. Die Basis enthält weitaus den meisten Wuchsstoff, wobei Wuchsstoff 2 gegenüber der IES stark zurücktritt.

Im Hemmstoffgehalt stimmen vegetative und blühende Pflanzen zwar in allen Zonen überein, doch liegt das Verhältnis Wuchsstoff zu Hemmstoff bei den blühenden so, daß eine bedeutend höhere aktuelle Wuchsstoffkonzentration resultiert als bei den vegetativen. Hierzu muß jedoch einschränkend bemerkt werden: Wenngleich auch Hemmstoffe von Eiweißcharakter bekannt sind (BRAMESFIELD 1955), müßte doch speziell für Faktor B noch bewiesen werden, daß er im *Streptocarpus*-Blatt die gleiche physiologische Aktivität aufweist wie im *Avena*-Test. Folgendes könnte darauf hinweisen: Vegetative Exemplare, in denen Wuchsstoff und Hemmstoff im Laufe des Jahres gleichermaßen weniger werden, wachsen kaum mehr. Pflanzen in der Klimakammer, in denen ebenfalls gleichlaufende Wuchsstoff- und Hemmstoffschwankungen stattfinden, weisen überhaupt kein Wachstum auf, obwohl doch gegen Ende der Induktionsperiode wieder genügend Wuchsstoff in der Basis vorhanden ist. Erst eine *Zunahme* des Wuchsstoffes bei gleichzeitiger *Abnahme* des Hemmstoffes fällt mit den erwähnten starken Wachstumsleistungen im Anschluß an die Induktion zusammen. Diese Divergenz der Kurven für Wuchsstoff und Hemmstoff beginnt sich in der Blattbasis schon gegen Ende der Induktionsperiode abzuzeichnen.

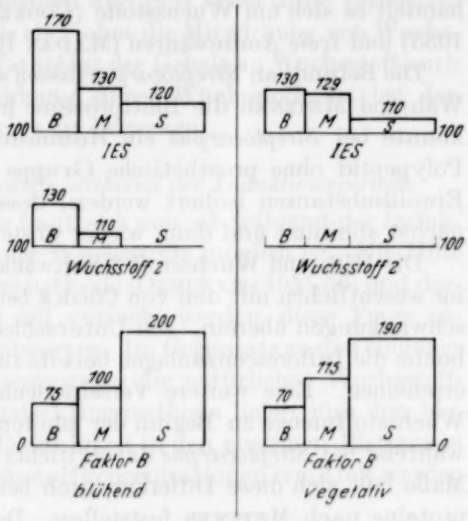


Abb. 10. Der Wuchsstoff- und Hemmstoffgehalt blühender und vegetativer *Streptocarpus*-Exemplare. Ordinate: im Falle der Wuchsstoffe Wachstum der Koleoptilen in % des Wachstums in aqua dest., im Falle von Faktor B Extinktion bei 270 mμ in % der Leucinextinktion bei 270 mμ. Abszisse: Länge der Mittelrippe, unterteilt in die auf die Zonen B, M, S entfallenden Abschnitte (s. Abb. 1)

Endgültigen Aufschluß könnte erst die Anwendung von Faktor B auf *Streptocarpus* selbst bringen, doch erscheint die Applikation einer Eiweißsubstanz auf oder in die Blattfläche wenig aussichtsvoll.

IV. Diskussion

A. Vergleich mit anderen Arbeiten

Alle Arbeiten, die bisher über Veränderungen bestimmter Stoffe während der Blühinduktion von Kurztagspflanzen vorliegen, weisen in ihren Ergebnissen gemeinsame Züge auf. Stets durchlaufen die quantitativen Veränderungen ein mehr oder weniger ausgeprägtes Minimum, ganz gleich, welche Substanzen im einzelnen untersucht wurden. Abgesehen von ähnlich verlaufenden Schwankungen des p_H-Wertes (Garner, Bacon and Allard 1924) und der Fermentaktivität (Hibbard 1937) handelt es sich um Wuchsstoffe (Cooke 1954), Blattproteine (Metzner 1955) und freie Aminosäuren (Madan 1956).

Die Befunde an *Streptocarpus* lassen sich hieran zwanglos anschließen. Während Metzner die Blattproteine in ihrer Gesamtheit untersuchte, konnte bei *Streptocarpus* ein Hemmstoff — allem Anschein nach ein Polypeptid ohne prosthetische Gruppe — von der Menge der übrigen Eiweißsubstanzen isoliert werden, dessen Konzentration ebenfalls zunächst abnimmt und dann wieder ansteigt.

Die IES- und Wuchsstoff 2-Schwankungen in *Streptocarpus* stimmen im wesentlichen mit den von Cooke bei *Soja* festgestellten Wuchsstoffschwankungen überein. Ein Unterschied liegt darin, daß bei der Sojabohne die Inflorescenzanlagen bereits zur Zeit des Wuchsstoffminimums erscheinen. Eine weitere Verschiedenheit liegt in einem Anstieg der Wuchsstoffmenge zu Beginn der photoperiodischen Induktion bei *Soja*, während bei *Streptocarpus* davon nichts zu bemerken ist. In geringerem Maße läßt sich diese Differenz auch bei dem Vergleich Faktor B/Blattproteine nach Metzner feststellen. Doch ist der anfängliche Anstieg nach Cooke nur eine schockartige Reaktion, die auf den plötzlichen Wechsel der Tageslänge zurückzuführen ist. Diese Schockreaktion könnte bei *Streptocarpus* am dritten Tag der Induktion, an dem die jeweils erste Extraktion angesetzt wurde, schon abgelaufen sein. Da es sich aber bei *Streptocarpus* — und darauf weist die vergleichsweise lange Induktionszeit hin — um ein langsamer reagierendes System handelt, ist es wahrscheinlicher, daß sie überhaupt ausbleibt.

Obwohl *Streptocarpus wendlandii* Utrecht schon rein morphologisch und auch physiologisch auf Grund seiner Induktionsbedingungen eine Sonderstellung einnimmt, reiht er sich doch durch die während der Blühinduktion ablaufenden Prozesse ohne weiteres in das für Kurztagspflanzen bisher bekannte Schema ein. Daraus kann man die Berechtigung herleiten, die Ergebnisse an *Streptocarpus* nicht als Sondererscheinung, sondern in weiterem Rahmen zu diskutieren.

B. Die Bedeutung der Wuchsstoffe in der reproduktiven Phase

Jede reproduktive Phase weist ausgesprochen vegetative Leistungen auf, z. B. das Auswachsen der Inflorescenzen mit Internodienstreckung

unterhalb der Blüten. Durch geeignete Außenbedingungen läßt sich diese vegetative Leistung u. U. von der Blütenbildung trennen. So konnten LANG und MELCHERS (1943) bei *Hyoscyamus* durch erhöhte Temperatur eine Internodienstreckung wie in der reproduktiven Phase bei vegetativen Exemplaren erreichen. Bei *Streptocarpus w.* U. findet sich nicht nur das erwähnte Aufschießen der Inflorescenzen, sondern das Erscheinen und weitere Auswachsen der Vegetationskegel fällt mit einer neuen lebhaften Tätigkeit der basalen Meristeme zusammen, wie sie sonst nur auf dem Höhepunkt der vegetativen Entwicklung festzustellen ist.

In der reproduktiven Phase können also ganz beachtliche vegetative Leistungen vollbracht werden, die aber ohne die Mitwirkung von Wuchsstoffen undenkbar sind. In der Tat steigt der Gehalt an Wuchsstoff auch wieder an. Von einer Hemmwirkung dieser Wuchsstoffe ist bei den natürlichen Konzentrationen nichts zu bemerken.

C. Die Bedeutung der Wuchsstoffe während der Induktionsperiode

1. Blattstecklingsmethode. Es fragt sich nun, ob während der Induktion ein hemmendes Eingreifen der Wuchsstoffe möglich ist. Mit Hilfe der Ergebnisse der Blattstecklingsmethode (OEHLKERS 1955/56) und derjeniger der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, diese Frage zumindest für *Streptocarpus* zu beantworten. Im Gegensatz zu den eingangs erwähnten Arbeiten sind bei *Streptocarpus* die natürlichen Wuchsstoffverhältnisse bekannt. Die Blattstecklingsmethode liefert nun den biologischen Test, durch den die Blühfähigkeit in den einzelnen Blattzonen bei eben diesen natürlichen Wuchsstoffkonzentrationen ermittelt werden kann.

2. Die letzten vier Wochen der Induktion. Bei *Streptocarpus* muß zwischen den ersten und den letzten vier Wochen der Induktion unterschieden werden. Man kann die Induktion schon nach vier Wochen abbrechen (OEHLKERS 1956) und erhält ebenfalls einen Blüheffekt, der allerdings geringer ist als bei acht Wochen lang induzierten Exemplaren. Um einen optimalen Blüheffekt zu erhalten, muß acht Wochen lang induziert werden.

Wenn irgendwelche hemmenden Einflüsse von seiten des Wuchsstoffes in den letzten vier Wochen der Induktion bestünden, müßte sich das in bestimmten Beziehungen zwischen Wuchsstoffgehalt und Blühfähigkeit der Stecklinge äußern. Daß sich der Wuchsstoff in *Streptocarpus*stecklingen überhaupt an morphogenetischen Prozessen beteiligen kann, geht aus Arbeiten des hiesigen Institutes hervor (HENGST, Dissertation 1957).

Wie Abb. 11 zeigt, lassen sich keinerlei Parallelen zwischen Wuchsstoffgehalt und Blühwilligkeit der Stecklinge feststellen. Bei ganz verschiedenem Wuchsstoffgehalt können die Stecklinge doch in gleicher Zahl zur Blüte gelangen. Selbst wenn man Faktor B als möglichen

Wuchsstoffantagonisten in Betracht zieht, bleiben die Unterschiede im aktuellen Wuchsstoffgehalt bestehen. — Die Stecklingsversuche allein sagen noch nichts über die Qualität des blüteninduzierenden Prinzips aus. Die Unabhängigkeit des Blüheffektes von den jeweiligen Wuchsstoffkonzentrationen dagegen läßt sich am zwanglosesten durch das Vorhandensein eines blütenbildenden Faktors erklären, der nicht mit Wuchsstoffen oder bestimmten Wuchsstoffkonzentrationen in Zusammenhang gebracht werden kann. In den letzten vier Wochen der Induktion kann dieses blütenbildende Prinzip in seiner Wirksamkeit durch Wuchsstoffe innerhalb physiologischer Konzentrationen nicht mehr eingeschränkt werden. Die Unterschiede im Blüheffekt (nach vier Wochen insgesamt weniger blühende Stecklinge als nach acht Wochen) sind lediglich quantitativer Art. Die Bedeutung der zweiten Hälfte der Induktionsperiode dürfte demnach in einer Vermehrung des anfangs nur in geringen Mengen vorliegenden blüteninduzierenden Faktors bestehen. LOCKHART und HAMNER (1954b) kamen bei *Xanthium* auf Grund einer ganz anderen Methodik ebenfalls zu dem Schluß, es müsse im zweiten Teil der Induktionszeit eine Anhäufung des Blühstimulus erfolgen.

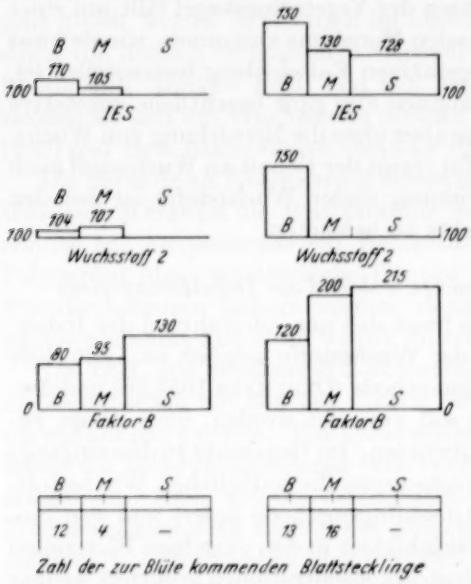


Abb. 11. Wuchsstoffgehalt, Hemmstoffgehalt und Zahl der zur Blüte gelangenden Blattstecklinge in der vierten (links) und achten Woche der Induktion. Blütenbildung der Blattstecklinge nach OEHLKERS 1956. Erklärung wie Abb. 10

3. Die ersten vier Wochen der Induktion. Wuchsstoff und Blühstimulusvorstufe. Da der blütenbildende Faktor nach der vierten Woche bereits vorliegt, muß seine erstmalige Bildung bzw. die Bereitstellung von Vorstufen in den vorausgehenden vier Wochen erfolgen. Wenn überhaupt, so kann der Wuchsstoff nur in diese Bildungsprozesse hemmend eingreifen. Ob das tatsächlich der Fall ist, kann allein auf Grund von Analysen nicht entschieden werden. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß die Bildungsphase mit dem Absinken des Wuchsstoffgehaltes gegen Mitte der Induktionsperiode zeitlich und kausal zusammenfällt. Auch COOKE kann es für *Soja* nicht ganz von der Hand weisen, daß diese Bildungsprozesse bei absinkenden Wuchsstoffkonzentrationen gerade noch abgelaufen sein könnten.

Eine Ergänzung in dieser Hinsicht bieten die Arbeiten von LOCKHARDT und HAMNER (1954a, b) und HAMNER und NANDA (1956) an *Xanthium* und *Soja*. Die genannten Autoren kommen auf Grund von Wuchsstoffbehandlungen zu dem Schluß, IES müsse eine zerstörende oder zumindest inaktivierende Wirkung auf eine Blühstimulus*vorstufe* ausüben. LOCKHARDT und HAMNER (1954a) fordern ein niederes Wuchsstoffniveau in der Pflanze während der Bildung des Blühstimulus, wie es bei *Streptocarpus* tatsächlich vorliegt. — Bei *Streptocarpus* erscheint demnach ein hemmendes Eingreifen von Wuchsstoffen allenfalls bei der Bildung des blüteninduzierenden Faktors möglich. Zeitlich müßte eine solche Hemmung mit dem Absinken des Wuchsstoffspiegels zusammenfallen. Die letzten vier Wochen der Induktion dienen der Vermehrung des einmal gebildeten Blühstimulus und der Einleitung der reproduktiven Phase. Eine Hemmung durch Wuchsstoffe innerhalb natürlicher Konzentrationen auf die Blütenbildung findet innerhalb dieser vier Wochen normalerweise nicht statt.

Zusammenfassung

1. Aus *Streptocarpus wendlandii* Utrecht lassen sich mit Äther zwei Wuchsstoffe extrahieren, von denen der eine β-Indolylessigsäure, der andere wahrscheinlich Indolacetonitril ist.

2. Aus *Streptocarpus* läßt sich mit Äther ein Hemmstoff extrahieren, in dem nach Hydrolyse bisher 10 Aminosäuren aufgefunden werden konnten. Eine prosthetische Gruppe ließ sich nicht ermitteln. Der Hemmstoff wirkt im *Avena*-Sektionstest als IES-Antagonist.

3. Im Blatt von *Streptocarpus wendlandii* Utrecht liegt ein von der Basis zur Spitze fallender Wuchsstoff- und ein in gleicher Richtung steigender Hemmstoffgradient vor.

4. In der vegetativen Entwicklung von *Streptocarpus* nimmt mit dem Nachlassen der Wachstumsleistung der Gehalt an Wuchsstoff besonders in den basalen meristematischen Blattzonen ab.

5. Während der Blühinduktionsperiode durchlaufen Wuchsstoff- wie Hemmstoffgehalt ein in der Basis des Blattes besonders ausgeprägtes Minimum in der vierten Woche einer Induktionszeit von insgesamt acht Wochen.

6. Gleichaltrige blühende und vegetative Pflanzen haben denselben Hemmstoffgehalt, dagegen sind in den blühenden Pflanzen weitaus mehr Wuchsstoffe, vor allem in der Blattbasis, vorhanden.

7. Die Wuchsstoffverhältnisse im *Streptocarpus*-Blatt lassen beim Vergleich mit den Blattstecklingsversuchen von OEHLKERS ein hemmendes Eingreifen von Wuchsstoffen innerhalb physiologischer Konzentrationsgrenzen allenfalls bei der Bildung des blüteninduzierenden Prinzips zu.

Literatur

BENNET-CLARK, T. A., and N. P. KEFFORD: Chromatography of the growth substances in plant extracts. Nature (Lond.) **171**, 645—647 (1953). — BENNET-CLARK, T. A., M. S. TAMBIAH and N. P. KEFFORD: Estimation of Plant Growth Substances by Partition Chromatography. Nature (Lond.) **169**, 452—453 (1953). — BONNER, J., and D. BONNER: Note on Induction of Flowering in Xanthium. Bot. Gaz. **110**, 154 (1948). — BONNER, J., and J. THURLOW: Inhibition of photoperiodic induction in Xanthium by applied auxin. Bot. Gaz. **110**, 613 (1949). — BRAMESFIELD, B.: Untersuchungen zur Frage der β-Indolylessigsäure-Bindung im Maisscutellum. Z. Bot. **43**, 103—124 (1955). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — CLAES, H.: Über die Wirkung von β-Indolylessigsäure und Trijodbenzoesäure auf die Blütenbildung von Hyoscyamus niger. Z. Naturforsch. **7b**, 50—55 (1951). — COOKE, A. R.: Changes in free auxin content during the photoinduction of short-day plants. Plant Physiol. **29**, 440—444 (1954). — CRAMER, F.: Papierchromatographie, 2. Aufl. Weinheim 1953. — DENFFER, D. v.: Blühhormon oder Blühhemmung? Neue Gesichtspunkte zur Physiologie der Blütenbildung. Naturwiss. **37**, 296—301, 317—321 (1950). — DENFFER, D. v., u. H. GRÜNDLER: Über wuchsstoffinduzierte Blühhemmung bei Langtagpflanzen. Biol. Zbl. **69**, 272—282 (1950). — FISCHER, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288—314 (1954). — GALSTON, A.: The effect of 2, 3, 5-triiodobenzoic acid on the growth and flowering of Soybean. Amer. J. Bot. **34**, 356—360 (1947). — GARNER, W. W., C. W. BACON and H. A. ALLARD: Photoperiodism in relation to hydrogen-ion concentration of the cell sap and the carbohydrate content of the plant. J. Agricult. Res. **27**, 119 (1924). — HAMNER, K. C., and K. K. NANDA: A relationship between application of indoleacetic acid and the high-intensity-light reaction of photoperiodism. Bot. Gaz. **118**, 13—18 (1956). — HARDER, R.: Über den Einfluß der Tageslänge nach der photoperiodischen Induktion auf die Inflorescenzen von Kalanchoë Bloßfeldiana. Planta (Berl.) **42**, 19—29 (1953). — HARDER, R., u. H. v. SENDEN: Antagonistische Wirkung von Wuchsstoff und Blühhormon. Naturwiss. **36**, 348 (1949). — HENGST, K. H.: Untersuchungen über die Physiologie der Regeneration in der Gattung Streptocarpus Lindl. Diss. Freiburg 1957. — HIBBARD, A. D.: Photoperiodism and enzyme activity in the Soybean plant. Univ. Missouri Agricult. Exper. Stat. Res. Bull. **1937**, 271. — JERSCHEL, D., u. R. MÜLLER: Papierchromatographie der β-Indolylessigsäure. Naturwiss. **38**, 561 (1951). — JONES, E. R. H., H. B. HENBEST, G. F. SMITH and J. A. BENTLEY: 3-Indoleacetonitril: a naturally occurring plant growth hormon. Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — LANG, A., u. G. MELCHERS: Die photoperiodische Reaktion von Hyoscyamus niger. Planta (Berl.) **33**, 653 (1943). — LARSEN, P.: Growth substances in higher plants. In K. PAECH u. M.V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 3. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — LEOPOLD, A. C.: The control of tillering in grasses by auxin. Amer. J. Bot. **36**, 437—440 (1949). — LINSER, H. F.: Papierchromatographie von zellstreckend wirksamen Indolkörpern aus Brassica-Arten. Planta (Berl.) **44**, 103—120 (1954). — LOCKHARDT, J. A., and K. C. HAMNER: Effect of darkness and indoleacetic acid following exposure to short day on the floral response of Xanthium, a short-day plant. Bot. Gaz. **116**, 133—142 (1954a). — Partial reactions in the formation of the floral stimulus in Xanthium. Plant Physiol. **29**, 509—513 (1954b). — LUCKWILL, L. C.: Application of paper-chromatography to the separation and identification of auxins and growth inhibitors. Nature (Lond.) **169**, 375 (1952). — MADAN, C. L.: Die Verteilung der freien Aminosäuren in der Pflanze und ihre Beeinflussung durch photoperiodische Induktion. (Untersuchungen an Kalanchoë

Bloßfeldiana.) Planta (Berl.) **47**, 53—80 (1956). — MELCHERS, G.: The Physiology of Flower-Initiation. Dokumentationsstelle der Max-Planck-Ges., Göttingen 1952. — MELCHERS, G., u. A. LANG: Die Physiologie der Blütenbildung. Biol. Zbl. **1948**, 105—174. — METZNER, H.: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **45**, 493—534 (1955). — OEHLKERS, F.: Blattstecklinge als Indikatoren für blütenbildende Substanzen. Z. Naturforsch. **10b**, 158—160 (1955). — Veränderungen in der Blühbereitschaft vernalisierter Cotyledonen von Streptocarpus, kenntlich gemacht durch Blattstecklinge. Z. Naturforsch. **11b**, 471—480 (1956). — POHL, R.: Zur Reaktionsweise der Wuchsstoffe bei der Zellstreckung. Z. Bot. **41**, 343—372 (1953). — PORATH, J., and P. FLODIN: A new method for the detection of aminoacids, peptides, proteins and other buffering substances on paper. Nature (Lond.) **168**, 202 (1951). — ROBERTS, R. H.: The induction of flowering with a plant extract. In F. SKOOG: Plant growth substances. 1951. — SEN, P. S.: Wachstumsregulatoren und verwandte Stoffe. In H. F. LINSKENS: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — THIMANN, K. V., and R. H. LANE: After-effects of the treatment of seed with auxin. Amer. J. Bot. **25**, 535—543 (1938). — THURLOW, J., and J. BONNER: Inhibition of photoperiodic induction in Xanthium. Amer. J. Bot. **34**, 603—604 (1947). — TURBA, F.: Chromatographische Methoden in der Protein-Chemie. Berlin-Göttingen Heidelberg: Springer 1954.

Dr. D. HESS,
Botanisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., Schänzlestr. 9

Planta, Bd. 50, S. 526—556 (1958)

Aus dem Institut für Obstbau der Universität Bonn

UNTERSUCHUNGEN ÜBER ENTWICKLUNG UND WUCHSSTOFFHAUSHALT BEI RIBES-ARTEN

I. Mitteilung

CYTOLOGISCHE UND WUCHSSTOFFPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN DER SAMEN JE EINER KULTURSORTE VON RIBES NIGRUM L. UND RIBES PETRAEUM WULF. × RIBES MULTIFLORUM KIT. NACH SELBST- UND FREMDBESTÄUBUNG *

Von

HANS-DIETER KLÄMBT

Mit 22 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Oktober 1957)

Einleitung

Ältere Arbeiten von KNUTH (1898) und GÜNTHART (1915) hatten ergeben, daß Schwarze und Rote Johannisbeeren als selbstfertil gelten können. Nach GÜNTHART (1915) soll *Ribes nigrum* sogar autogam sein. Folgende Arbeiten — WELLINGTON, HATTON und AMOS (1921); STRONG (1944, 1948); NEUMANN (1953); TEAOTIA und LUCKWILL (1956) —, die sich zumeist mit dem Problem des Nachblüte- und Vorerntefruchtfalls befaßten, gingen von der Selbstfertilität als Voraussetzung aus.

Unbeachtet blieben die Arbeiten von LEDEBOER und RIETSEMA (1937, 1940), die für die Schwarze Johannisbeersorte Lee's eine hochgradige Selbstunfruchtbarkeit nachwiesen. Andere Sorten zeigten verschiedene Abstufungen im Selbststerilitätsgrad. Dieses Ergebnis konnte durch neuere Untersuchungen von NEUMANN (1955b), SCHANDERL (1956) und KLÄMBT (1957) voll bestätigt werden. Danach scheinen die Roten Johannisbeersorten durchweg partiell selbststeril zu sein, während die Kultursorten von *Ribes nigrum* L. alle Abstufungen zwischen hochgradig selbststeril und selbstfertil aufweisen. Damit gewinnt die schon 1937 von LEDERBOER und RIETSEMA ausgesprochene Vermutung, daß der Fruchtfall mit der Art des Bestäubers zusammenhängt, neues Interesse.

Seit den Arbeiten von DOLLFUS (1936) und GUSTAFSON (1939) ist es bekannt, daß Samenanlagen bzw. sich entwickelnde Samen einen relativ hohen Wuchsstoffspiegel besitzen, der offenbar auch für das Streckungswachstum der Frucht verantwortlich ist. Diese Ergebnisse sind später

* Teile einer Dissertation: Die Befruchtungsverhältnisse bei Schwarzen und Roten Johannisbeeren und ihr Einfluß auf Entwicklung und Wuchsstoffhaushalt der Früchte, Bonn 1957.

von NITSCH (1950) an Erdbeeren bestätigt worden. Nach ihm besteht eine direkte Abhängigkeit des Fruchtfleischwachstums von der Entwicklung der Nüßchen. Seine Wuchsstoffuntersuchungen haben ergeben, daß die Samen reich an freien Wuchsstoffen sind, die dem fleischigen Rezeptakel fehlen. Es war gewissermaßen die Probe aufs Exempel, daß er die für das Wachstum der Frucht notwendigen Nüßchen durch Wuchsstoffpaste — β-Naphthylessigsäure oder β-Indolylessigsäure in Lanolin-Paste — voll ersetzen konnte.

Die aus den Untersuchungen von NITSCH resultierende positive Korrelation zwischen Samenzahl und Fruchtgewicht ist u. a. bereits von MÜLLER-THURGAU (1898) für die Weinbeere festgestellt worden und neuerdings von NEUMANN (1953) für 5 verschiedene Schwarze Johannisbeersorten. Für das Kernobst braucht diese Korrelation nicht unbedingt zu bestehen (KOBEL 1931 und RUDLOFF und SCHMIDT 1933). SCHANDER (1955a, 1955b) erkannte jedoch die Mißgestaltung der Früchte als Folge einer auf die fünf Fruchtblätter ungleich verteilten Befruchtung und Entwicklung der Samen, womit die oben erwähnte Abhängigkeit dokumentiert wird.

Bei Untersuchungen an Äpfeln fand LUCKWILL (1948, 1949, 1953a), daß der Wuchsstoffgehalt der sich entwickelnden Samen auch in einer negativen Korrelation zum Fruchtfall steht.

Ganz entsprechend sind von TYDEMAN (1943) und VISSER (1955) negative Korrelationen zwischen dem Fruchtfall — Junifall — und dem Samengehalt bei verschiedenen Apfelsorten beschrieben worden.

Die Ergebnisse weisen auf eine Parallele zwischen dem Wuchsstoffgehalt der Samen in Beziehung zum Fruchtgewicht und zum Fruchtfall einerseits und auf Korrelationen zwischen Samenzahl zu Fruchtgewicht und Samenzahl zu Fruchtfall andererseits hin. Die Bedeutung der Samen für die gesamte Fruchtentwicklung wird dadurch besonders unterstrichen.

Angesichts der engen Korrelation zwischen Fruchtentwicklung und Fruchtfall auf der einen Seite und dem Wuchsstoffhaushalt der Samen auf der anderen, scheint auch zwischen Frucht- und Samenentwicklung der Beeren und dem Verhalten der Fruchttrennungsgewebe eine mögliche Korrelation zu bestehen.

In der vorliegenden Arbeit wird nun der Einfluß der Pollensorte — Selbstungs- und Fremdungspollen — auf die Samenentwicklung und darüber hinaus auf die gesamte Fruchtentwicklung anhand cytologischer Untersuchungen und parallel dazu durchgeführter Wuchsstoffbestimmungen dargestellt. Zur Unterstützung der Ergebnisse aus den Wuchsstoffuntersuchungen sind Regressionsberechnungen für den Fruchtgewichtsanteil je Samen zur Samenzahl je Beere hinzugezogen worden.

Nach Abschluß der vorliegenden experimentellen Arbeiten berichteten NEUMANN (1955a) und WRIGHT (1956) über Wuchsstoffuntersuchungen an Roten und vor allem an Schwarzen Johannisbeeren. Auf sie wird an anderer Stelle (s. S. 550) genauer einzugehen sein.

I. Material und Methoden

Alle Versuche wurden in den Jahren 1955 und 1956 durchgeführt. Als Untersuchungsmaterial wurden Beeren bzw. Samen von Johannisbeeren folgender Sorten und Bestäubungskombinationen verwendet.

Sorten:

Ribes Untergattung *Ribesia* Berl.
Sektion *Eucoreosma* Jancz.
Ribes nigrum L. cv. Rosenthals Langtraubige
cv. Goliath (nur als Pollensorte)
Sektion *Ribesia* Berl.
Ribes petraeum Wulf. cv. Rote Holländer (nur als Pollensorte)
R. petraeum Wulf. × *R. multiflorum* Kit. cv. Heinemanns Spätlese

Bestäubungskombinationen:

Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K. (= Selbstung mit Kastration)
Rosenthals Langtraubige × Goliath
Rosenthals Langtraubige frei abgeblüht
Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K.
Heinemanns Spätlese × Rote Holländer
Heinemanns Spätlese frei abgeblüht

Die jeweils zuletzt genannte Kombination wurde nur teilweise als Kontrolle hinzugezogen.

1. Cytologische Untersuchungen

Für die cytologischen Untersuchungen wurden die Beeren direkt nach der Bestäubung alle 2 Tage und nach 14 Tagen bis zur Ernte wöchentlich abgenommen und nach NAVASHIN fixiert. Anschließend kam das Material über die aufsteigende Alkoholreihe, Methylbenzoat, Benzol und Benzol-Paraffin in Paraffin. Die eingebetteten Samen wurden je nach Entwicklungsalter 8—15 μ dick geschnitten. Die Präparate wurden mit Gentianaviolett ohne Gegenfärbung angefärbt und über abs. Äthanol und Benzol in Caedax eingeschlossen.

2. Regressionsberechnungen

Das Verhältnis zwischen dem Fruchtgewichtsanteil je Samen — $\frac{y}{x}$ — und dem Samengehalt je Beere — x — innerhalb und zwischen den verschiedenen Bestäubungskombinationen wurde einer genauen Untersuchung unterzogen.

Aus der Kovarianzanalyse war ersichtlich, daß die Beziehungen keine gradlinigen Regressionskurven ergaben. Deshalb konnte die Regressionsberechnung nicht unmittelbar angewendet werden. Für beide Sorten wurde daher zunächst eine halb rechnerische, halb graphische Darstellung gewählt, wie sie für derartige Fälle üblich ist (SCHANDER 1955a). Zu diesem Zweck wurden die Beeren in Samenklassen zerlegt — für die schwarzfrüchtige Sorte in Klassen zu je 10 Samen mit 1—10, 11—20, 21—30 usw. Samen und für die rotfrüchtige Sorte zu je einem Samen — und zu ihren Mittelwerten — $\bar{x}$ — die Quotienten $\frac{\text{Fruchtgewicht}}{\text{Samenzahl}} = \frac{\bar{y}}{x}$ —

gebildet. Diese Werte sind in den graphischen Darstellungen aufgetragen und miteinander verbunden worden. Anschließend erfolgte für die Kombinationen der Sorte Heinemanns Spätlese nach Logarithmierung der Samenzahl — $\log x$ — und der Quotienten — $\log \frac{x}{y}$ —, einerseits um die für die Rechnung erforderliche Normalverteilung zu erhalten und andererseits um die Kurven zu begradigen, die Berechnung der Regressionskoeffizienten — $b_{\log \frac{y}{x} \cdot \log x}$ — und deren mittlere Abweichung — $s_{b_{\log \frac{y}{x} \cdot \log x}}$ —. Daran schloß sich dann der Vergleich der Regressionskoeffizienten nach FISHER (1954).

3. Wuchsstoffphysiologische Untersuchungen

Für die wuchsstoffphysiologischen Untersuchungen wurden je 10 Beeren der Selbstungs- und Fremdungskombinationen wöchentlich abgenommen. Aus zeitlichen Schwierigkeiten der Aufbereitung des Materials konnten von den frei abgeblühten Kombinationen nur 14tägig je 10 Beeren untersucht werden. Die Sammlung des Materials geschah jeweils morgens zwischen 7^{00} und 8^{00} Uhr.

Zur Extraktion gelangten nur die Samenanlagen bzw die heranwachsenden Samen der je 10 Beeren. DOLLFUS (1936) und NITSCH (1950) nahmen an, daß die Masse der Wuchsstoffe in den sich entwickelnden Samen lokalisiert sei. Diese Annahme wurde durch wiederholte eigene Kontrolluntersuchungen mit den Fruchtschalen beider Beerenobstarten bestätigt. Dieses Ergebnis rechtfertigt die Beschränkung der Untersuchungen ausschließlich auf die Samen.

Im ersten Monat nach der Bestäubung wurden zur Gewinnung der Wuchsstoffe die Samenanlagen mit ausgeglühtem Quarzsand in 6 cm^3 Äther zerrieben und anschließend 22 Stunden bei $+4^0$ C extrahiert.

Da mit fortschreitender Entwicklung der Wassergehalt der Samen — vor allem dieser der Sorte Heinemanns Spätlese — so stark zunahm, daß eine erschöpfende ätherische Extraktion nicht mehr gewährleistet war, mußte die Extraktionsmethode in folgender Weise abgeändert werden. Die Samen wurden in 5 cm^3 90%igem Äthanol bis zum Sieden erhitzt, mit Quarzsand zerrieben und der Extrakt mit 90%igem Äthanol auf insgesamt 7 cm^3 Lösung aufgefüllt und anschließend 22 Stunden bei $+4^0$ C extrahiert. Nach Abtrennung der unlöslichen Bestandteile folgte eine Trocknung des alkoholischen Extraktes im Vakuum bei $+50^0$ C. Der Rückstand wurde mit 5 cm^3 Aqua bidest. aufgenommen, zentrifugiert, im Scheidetrichter mit 100 cm^3 peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt und der Ätherextrakt bis auf 1—2 cm^3 eingeengt.

Beide Ätherextrakte — sowohl der aus der 1. direkten als auch der aus der 2. Extraktionsmethode — wurden möglichst quantitativ auf Chromatographierpapier Schleicher und Schüll 2043b aufgetragen. Zu diesem Zweck wurde das Papier über der gemeinsamen Startlinie in Streifen zu 2 cm Breite und 21—22 cm Länge geschnitten. Chromatographiert wurde aufsteigend im Dunkeln in Isopropanol: NH_3 (25%ig) : Wasser im Verhältnis 80:15:5. War das Lösungsmittel, von der Startlinie gerechnet, 20 cm gestiegen, so wurde das Chromatogramm herausgenommen, im Dunkeln an der Luft getrocknet und so 20—24 Stunden bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt. Jeder Chromatogrammstreifen wurde in 20 Teilstücke zu je 2 cm^2 zerlegt und vor der Einrichtung des biologischen Testes 15 bis 18 Stunden in kleinen Petrischalen mit 2 cm^3 Phosphatpuffer vom p_H 5,5 eluiert. Als Kontrolle zu jedem Testtermin erfolgte die Aufbereitung eines entsprechenden Chromatogrammstreifens ohne Pflanzenextrakt. Die Verwendung der Pufferlösung schloß jede unkontrollierbare Wachstumsbeeinflussung durch Verschiebung des p_H-Wertes von Testschale zu Testschale infolge von Aziditätsunterschieden der Chromatogrammteilstücke aus.

Zur Orientierung dienten Vergleichschromatogramme von synthetischer β-Indolylessigsäure (IES). Da ihre Entwicklung mit p-Dimethylaminobenzaldehyd — 1% in n HCl — eindeutige Resultate ergab, konnte das Reagens in speziellen Untersuchungen, die der Identifizierung der Wuchsstoffe galten, mit gutem Erfolg verwendet werden. Zur biologischen Prüfung der chromatographisch getrennten Substanzen kam der Weizenkoleoptilzylinder-Test zur Anwendung, der gegenüber dem Haferkoleoptilzylinder-Test den Vorzug besitzt, Hemmstoffe deutlicher anzuzeigen (LUCKWILL 1952). Zu diesem Zweck wurden Karyopsen (Nordost-Samlandweizen, Hochzucht) 4—5 Stunden eingeweicht, zur Vorselektion auf eine einheitliche Keimentwicklung in Petrischalen mit wenig Wasser für 45—48 Stunden bei +25° C gehalten, anschließend auf feuchtem Sand ausgelegt und nochmals für 45—48 Stunden bei +25° C belassen. Diese Behandlung gewährleistete eine recht einheitliche Koleoptillänge von 1,0—1,5 cm bei allen Keimpflanzen.

Mit einem doppelschneidigen Messer — durch Rasierklingen auswechselbar — wurden 4,5 mm lange Zylinderstücke in einer Entfernung von 2 mm von der Koleoptilspitze herausgeschnitten und, ohne das Folgeblatt zu entfernen, zu je 8 in die vorbereiteten kleinen Petrischalen mit den Testlösungen überführt.

Alle erwähnten Operationen geschahen ausschließlich bei Rotlicht.

Nach einer Inkubationszeit von 22 Stunden bei +25° C wurden die Versuche abgebrochen. Aus arbeitstechnischen Gründen konnten die Koleoptilzylinder nicht direkt unter einer Lupe gemessen werden. Deswegen wurden sie in den Petrischalen einer jeden Serie von insgesamt 20 Schalen photographiert und später anhand der Projektion der erhaltenen Negative gemessen.

Für die Auswertung wurde der Zuwachs der Koleoptilzylinder der Kontrollchromatogramme gleich 100 gesetzt und die Vertrauensgrenze bei einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1% bestimmt — $VG = \bar{x} \pm t_{N-1} \frac{s}{\sqrt{N}}$. Mittelwerte für Förderungs- und Hemmzonen, die außerhalb dieser Grenzwahrscheinlichkeit lagen, galten als von der Kontrolle signifikant verschieden.

Um ein Maß für den Förderungseffekt zu erhalten, wurde synthetische IES chromatographiert, eluiert, ebenfalls gegen Weizenkoleoptilzylinder getestet und aus den Zuwachswerten eine Eichkurve aufgestellt. Der Vergleich ergab die äquivalenten IES-Mengen, die in der Arbeit dargestellt werden.

Für den Hemmstoff lag keine synthetische Vergleichssubstanz vor.

II. Ergebnisse

Es hatte sich gezeigt, daß die Sorten Rosenthals Langtraubige und Heinemanns Spätlese partiell selbststeril sind. Dies äußert sich in einer geringeren mittleren Samenzahl je Beere nach Selbstbestäubung. Die Tabelle 1 läßt diese Unterschiede für die hier verwendeten Kombinationen klar erkennen. Im folgenden interessiert der Vergleich von Selbstungs- und Fremdungssamen mittels cytologischer und wuchsstoffphysiologischer Untersuchungen. Zur Unterstützung der Wuchsstoffuntersuchungen wurden Regressionsberechnungen für den Fruchtgewichtsanteil je Samen und der Samenzahl je Beere angestellt.

1. Cytologische Untersuchungen

Die Abb. 1—8 geben einen Einblick über Entwicklungsunterschiede und Entwicklungsverlauf von Selbstungs- und Fremdungssamen der Sorte Rosenthals Langtraubige.

Tabelle 1. *Mittlerer Samengehalt je Beere — $\bar{x}$ — der verschiedenen Bestäubungskombinationen an den Sorten Rosenthals Langtraubige (Ribes nigrum L.) und Heinemanns Spätlese (Ribes petraeum Wulf. × R. multiflorum Kit.)*

Bestäubungskombinationen Muttersorte	Vatersorte	1954 $\bar{x}$	1955 $\bar{x}$	1956 $\bar{x}$
Rosenthals Langtraubige	× Selbstung m.K.	20,3	18,4	21,6
Rosenthals Langtraubige	× Goliath	44,2	87,2	67,5
Rosenthals Langtraubige	frei abgeblüht	23,3	24,4	42,5
Heinemanns Spätlese	× Selbstung m. K.	3,2	2,7	5,5
Heinemanns Spätlese	× Rote Holländer	7,4	8,8	9,0
Heinemanns Spätlese	frei abgeblüht	4,0	—	6,3

Tabelle 2. *Die Entwicklung von Selbstungs- und Fremdungssamen der Sorte Rosenthals Langtraubige*

Tage nach der Bestäubung	Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K. Embryo Zellen	× Selbstung m. K. Endosperm Kerne	× Goliath Embryo Zellen	× Goliath Endosperm Kerne	Bemerkungen
9 Tage	1—4	1—8	4—8	4—16	Endosperm ist nucleär
13 Tage	20—40	100—140	40—60	150—180	
20 Tage		ca. $^1/_6$ des Nucellus		ca. $^1/_5$ des Nucellus	Endosperm ist cellulär
27 Tage		ca. $^2/_3$		ca. $^3/_4$	
34 Tage					Keimblätter sind an beiden Embryonen erkennbar
34—60 Tage (Ernte)					Der Rest der Entwicklung ist gekennzeichnet durch Zellvergrößerung im Endosperm und Ausdifferenzierung des Embryos in Kotyledonen, Plumula und Radicula

Anhand der Abb. 1—8 und aus der vergleichenden Darstellung in Tabellen 2 und 3 ist zu ersehen, daß ohne Änderung des Entwicklungsrhythmus die Fremdungssamen gegenüber den Selbstungssamen eine größere Zell- bzw. Kernvermehrung aufweisen, die im Anfang der Entwicklung sehr deutlich meßbar ist. Es bestehen also durchaus Unterschiede, so daß mit diesem Ergebnis die physiologische Gleichwertigkeit der Selbstungs- und Fremdungssamen angezweifelt werden muß. Bevor nun der Wuchsstoffhaushalt beider Samen untersucht werden soll, sind mittels der Regressionsberechnung Unterschiede in ihrem Einfluß auf die gesamte Fruchtentwicklung aufzudecken.

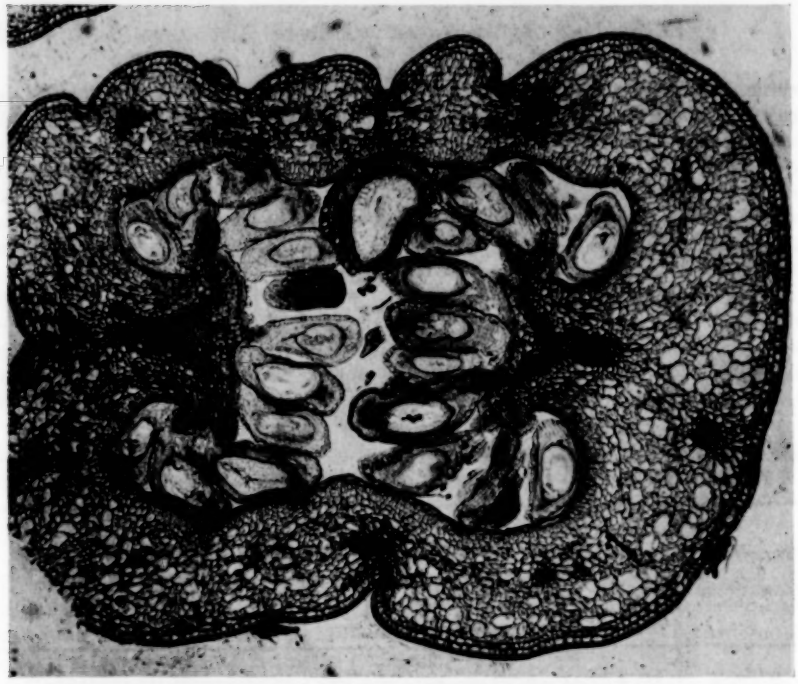


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1 und 2. Querschnitt durch Fruchtknoten einer kastrierten, selbstbestäubten Blüte (oben) und einer kastrierten, fremdbestäubten Blüte (× Goliath) von Rosenthals L. (unten) 9 Tage nach Bestäubung. Nach Selbstung entwickelt sich nur 1 Same, nach Fremdung zeigen sämtliche Samenanlagen gute Gesamtentwicklung. Nur die 3. S.—A. von links der oberen Placenta ist unbefruchtet und degeneriert. (Vergr. 16,6fach; Endvergr. 75fach)

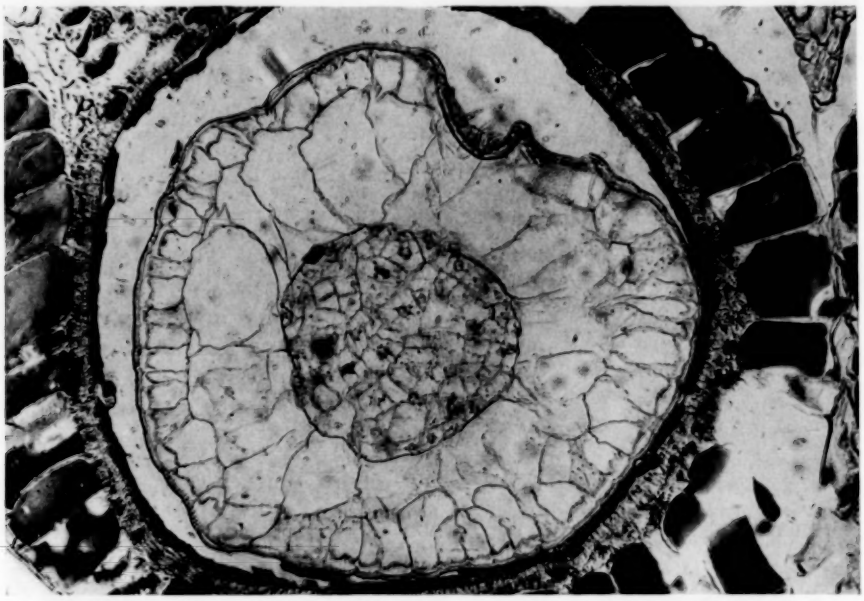


Abb. 3. Querschnitt durch einen Selbstungssamen von Rosenthals Langtraubige, 20 Tage nach der Bestäubung. Zellwandbildung im Endosperm. Die Abhebung des Nucellus ist ein Artefakt. (Vergr. 66,6fach; Endvergr. 320fach)

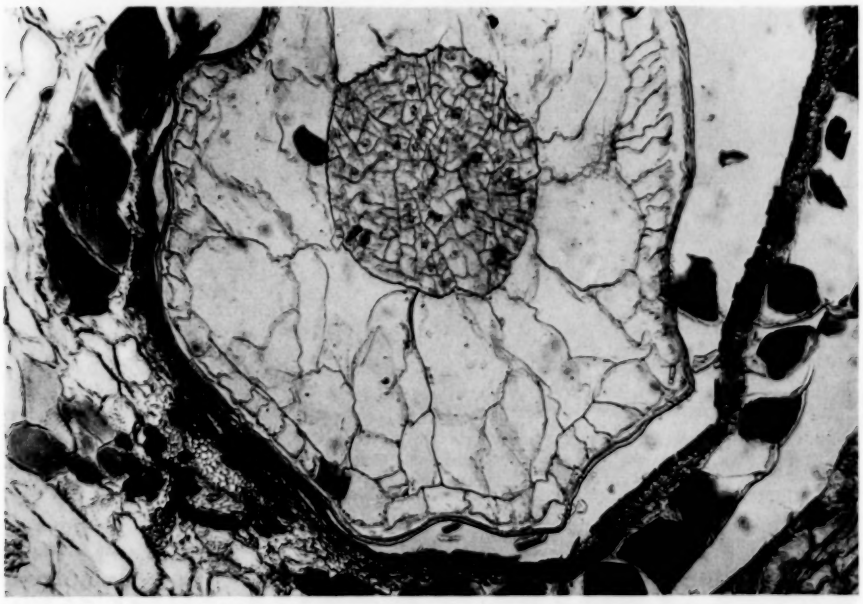


Abb. 4. Querschnitt durch einen Fremdungssamen von Rosenthals Langtraubige × Goliath, 20 Tage nach der Bestäubung. Das Endosperm ist cellulär. Die Abhebung des Nucellus ist ein Artefakt. (Vergr. 66,6fach; Endvergr. 240fach)

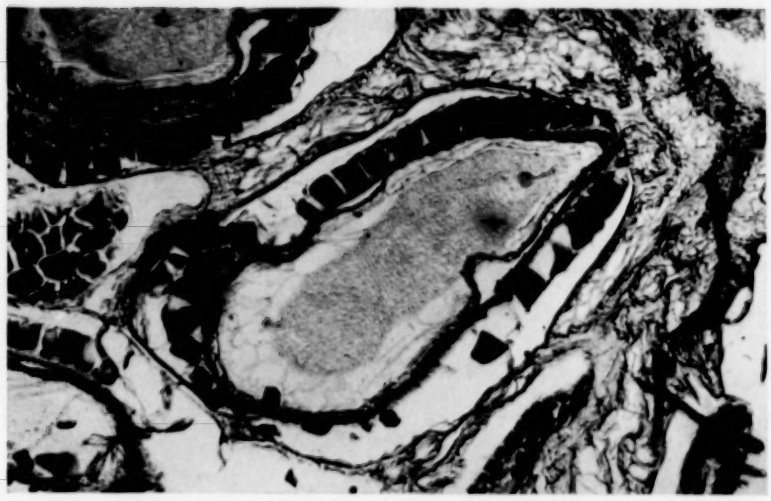


Abb. 5. Fremdungssamen von Rosenthals Langtraubige × Goliath, 27 Tage nach der Bestäubung. Kugeliger Embryo mit Suspensor. (Vergr. 16,6fach; Endvergr. 86fach)

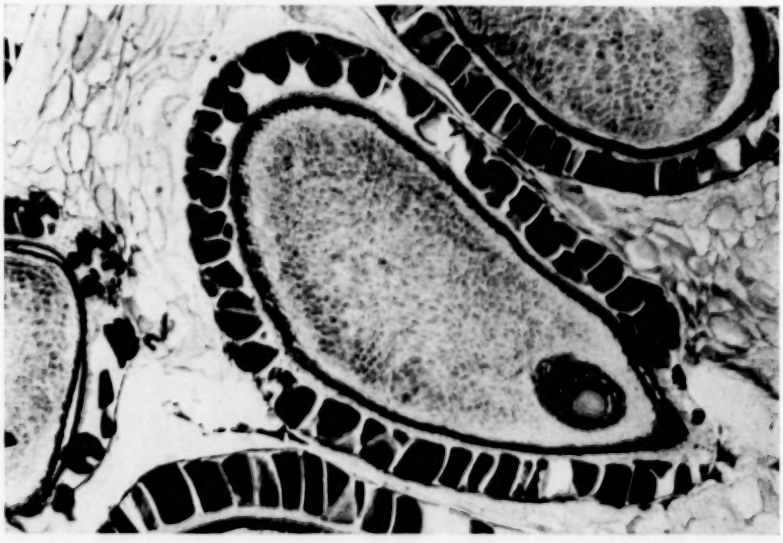


Abb. 6. Fremdungssamen von Rosenthals Langtraubige × Goliath, 34 Tage nach der Bestäubung. Embryo mit eben erkennbaren Keimblattanlagen. (Vergr. 16,6fach; Endvergr. 86fach)

2. Regressionsberechnungen

Aus dem eingangs gegebenen Überblick über den Zusammenhang von Samenzahl und Fruchtgewicht wurden die folgenden Untersuchungen der Samenzahl-Fruchtgewicht-Relation abgeleitet. Wie im

Abb. 7. Fremdungssamen von Rosenthals Langtraubige × Goliath, 41 Tage nach der Bestäubung. (Vergr. 16,6fach; Endvergr. 86fach)

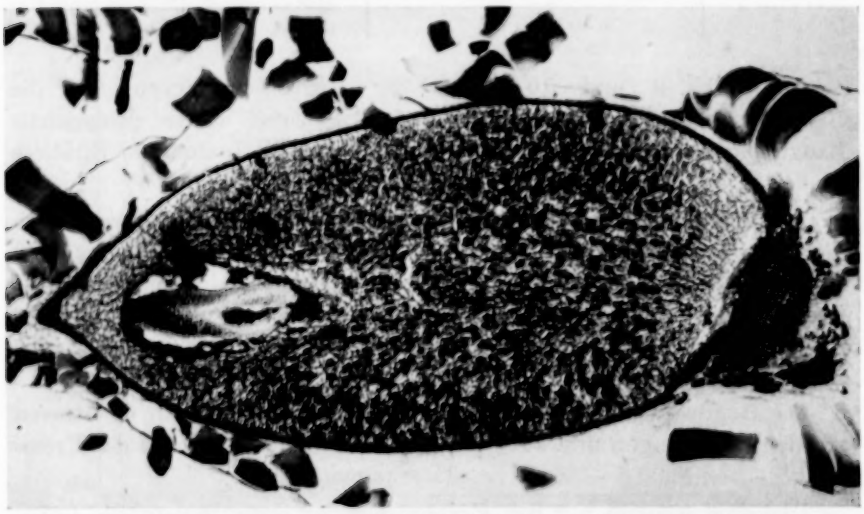


Abb. 8. Fremdungssamen von Rosenthals Langtraubige × Goliath, 61 Tage nach der Bestäubung zur Zeit der Beerenernte. (Vergr. 16,6fach; Endvergr. 86fach)

Abschnitt Material und Methoden (s. S. 528) näher ausgeführt wurde, interessiert in den folgenden Rechnungen und graphischen Darstellungen der Fruchtgewichtsanteil je Samen — $\frac{y}{x}$ — in Beziehung zur Samenzahl je Beere — x —.

Tabelle 3. *Die Entwicklung von Selbstungs- und Fremdungssamen der Sorten Heinemanns Spätlese*

Tage nach der Bestäubung	Heinemanns Spätlese				Bemerkungen
	× Selbstung m. K.		× Rote Holländer		
	Embryo Zellen	Endosperm Kerne	Embryo Zellen	Endosperm Kerne	
8 Tage	1–2	1–4	2–4	4–8	Endosperm ist nucleär
16 Tage	60–70		80–100		Endospermkerne sind nicht mehr eindeutig zählbar
22 Tage					Endosperm ist cellulär. Unterschiede treten nicht mehr klar hervor
50 Tage					Bis hierher meristematisches Wachstum des Endosperms
57 Tage					Keimblätter erkennbar
57–103 Tage (Ernte)					Der Rest der Entwicklung ist gekennzeichnet durch Zellstrekkung im Endosperm und Ausdifferenzierung des Embryos in Kotyledonen, Plumula und Radicula

Die Abb. 9 und 10 geben die Regressionskurven für die Behandlungskombination der schwarzfrüchtigen Sorte Rosenthals Langtraubige und der rotfrüchtigen Sorte Heinemanns Spätlese wieder.

Zunächst werden die auf S. 527 mitgeteilten Korrelationen durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Ferner ist bemerkenswert, daß zwischen dem Fruchtgewichtsanteil je Samen und der Samenzahl je Beere eine negative Korrelation vorliegt. Je mehr Samen also in einer Beere vorhanden sind, um so geringer ist der Anteil des Gesamtfruchtgewichts, der auf einen Samen entfällt.

Die Regressionskurven lassen deutliche Unterschiede für die Beeren aus den Selbstungen und aus „frei abgeblüht" einerseits und der Fremdung — × Goliath — andererseits erkennen.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen der Sorte Rosenthals Langtraubige verhält sich die Sorte Heinemanns Spätlese. Auch bei ihr fällt der Fruchtgewichtsanteil je Samen mit steigender Samenzahl je Beere ab, und die Beeren der Fremdung — × Rote Holländer — sind nur bei einem Samen je Beere schwerer als die entsprechenden der Selbstungs- und Kontrollkombinationen. Schon bei zwei Samen je Beere sinkt der Quotient stark ab, um bei drei Samen je Beere kleiner als der der

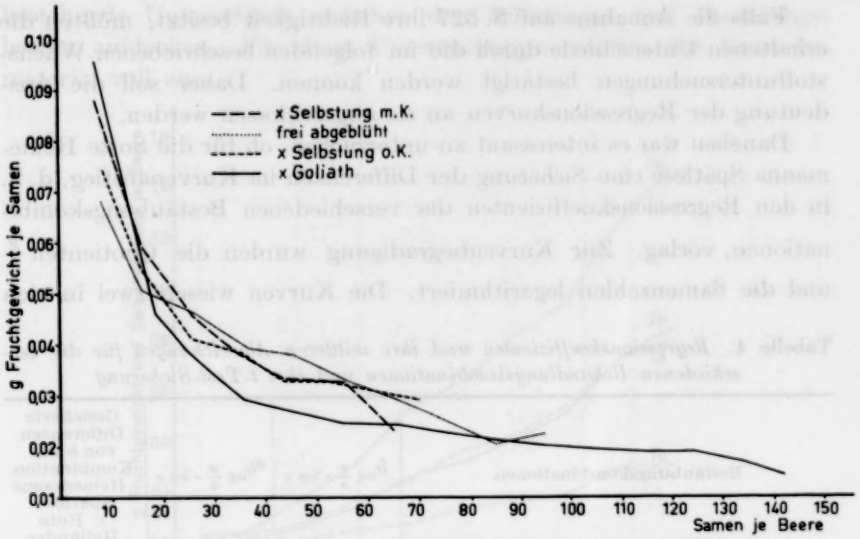


Abb. 9. Regressionskurven folgender Behandlungskombinationen: Rosenthals Langtraubige × Selbstung o. K., Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K., Rosenthals Langtraubige × Goliath, Rosenthals Langtraubige frei abgeblüht

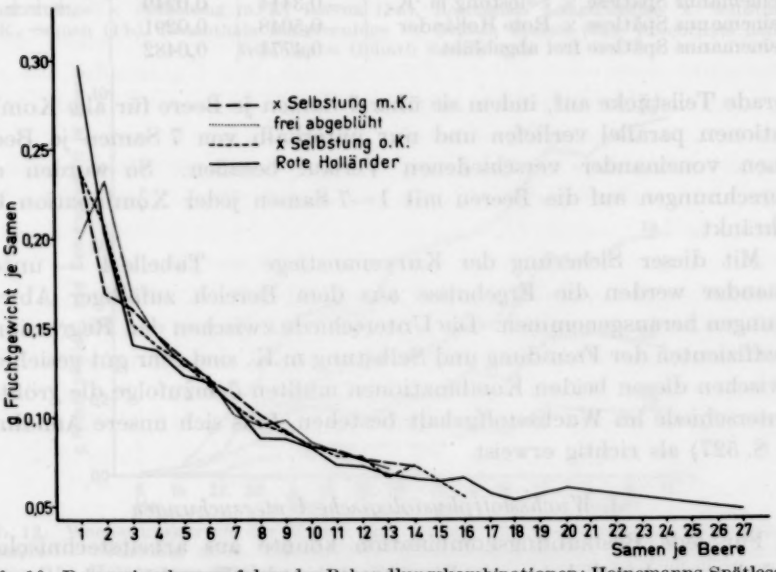


Abb. 10. Regressionskurven folgender Behandlungskombinationen: Heinemanns Spätlese × Selbstung o. K., Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K., Heinemanns Spätlese × Rote Holländer, Heinemanns Spätlese frei abgeblüht

anderen Kombinationen zu sein. Dieses augenfällige Phänomen steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Regressionsuntersuchungen an den Beeren der Schwarzen Johannisbeersorte.

Falls die Annahme auf S. 527 ihre Richtigkeit besitzt, müßten die erhaltenen Unterschiede durch die im folgenden beschriebenen Wuchsstoffuntersuchungen bestätigt werden können. Daher soll die Ausdeutung der Regressionskurven an sie angeschlossen werden.

Daneben war es interessant zu untersuchen, ob für die Sorte Heinemanns Spätlese eine Sicherung der Differenzen im Kurvenanstieg, d. h. in den Regressionskoeffizienten der verschiedenen Bestäubungskombinationen, vorlag. Zur Kurvenbegradigung wurden die Quotienten $\frac{y}{x}$ und die Samenzahlen logarithmiert. Die Kurven wiesen zwei in sich

Tabelle 4. *Regressionskoeffizienten und ihre mittleren Abweichungen für die verschiedenen Behandlungskombinationen und ihre t-Test-Sicherung*

Bestäubungskombinationen	$b_{\log \frac{y}{x} \cdot \log x}$	$s_{b_{\log \frac{y}{x} \cdot \log x}}$	Gesicherte Differenzen von b zur Kombination Heinemanns Spätlese × Rote Holländer
Heinemanns Spätlese × Selbstung o. K.	−0,4624	0,0386	—
Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K.	−0,3414	0,0249	+++
Heinemanns Spätlese × Rote Holländer	−0,5048	0,0291	—
Heinemanns Spätlese frei abgeblüht	−0,4771	0,0482	—

gerade Teilstücke auf, indem sie über 7 Samen je Beere für alle Kombinationen parallel verliefen und nur unterhalb von 7 Samen je Beere einen voneinander verschiedenen Verlauf besaßen. So wurden die Berechnungen auf die Beeren mit 1—7 Samen jeder Kombination beschränkt.

Mit dieser Sicherung der Kurvenanstiege — Tabelle 4 — untereinander werden die Ergebnisse aus dem Bereich zufälliger Abweichungen herausgenommen. Die Unterschiede zwischen den Regressionskoeffizienten der Fremdung und Selbstung m.K. sind sehr gut gesichert. Zwischen diesen beiden Kombinationen müßten demzufolge die größten Unterschiede im Wuchsstoffgehalt bestehen, falls sich unsere Annahme (s. S. 527) als richtig erweist.

3. Wuchsstoffphysiologische Untersuchungen

Für jede Bestäubungskombination konnte aus arbeitstechnischen Gründen wöchentlich nur ein Einzelwert aus der Extraktion der Samen von je 10 Beeren erhalten werden. Ferner mußten für die Untersuchungen Beeren aus kontrollierten Selbst- und Fremdbestäubungen verwendet werden, die verständlicherweise nur beschränkt zur Verfügung standen. Diese Untersuchungen sollten aber auch weniger den Wuchsstoffhaushalt während der ganzen Entwicklung aufzeigen, als vielmehr

bestehende Unterschiede zwischen den Selbstungs- und Fremdungsbeeren aufdecken. Für diese Untersuchungen reichte das Versuchsmaterial voll aus.

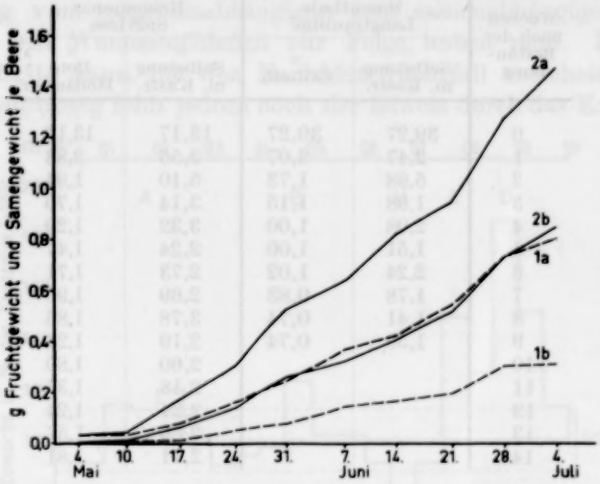


Abb. 11. Wachstumskurven der Beeren und Samen der Kombinationen: Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K. Beeren (1a), Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K. Samen (1b), Rosenthals Langtraubige × Goliath Beeren (2a), Rosenthals Langtraubige × Goliath Samen (2b)

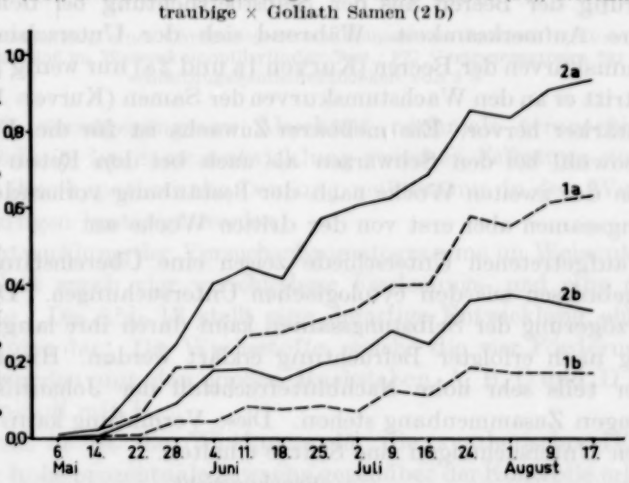


Abb. 12. Wachstumskurven der Beeren und Samen der Kombinationen: Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K. Beeren (1a), Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K. Samen (1b), Heinemanns Spätlese × Rote Holländer Beeren (2a), Heinemanns Spätlese × Rote Holländer Samen (2b)

An den Anfang der Besprechung der Ergebnisse sollen die beiden Wachstumskurven der Beeren und Samen für die Sorten Rosenthals Langtraubige und Heinemanns Spätlese gestellt und miteinander verglichen werden.

Tabelle 5. *Quotienten* $\frac{\text{Fruchtgewicht}}{\text{Samengewicht}} = \frac{y}{x}$ *für jede Probeentnahme während der Entwicklung der Beeren*

Wochen nach der Bestäubung	Rosenthals Langtraubige		Heinemanns Spätlese	
	× Selbstung m. Kastr.	× Goliath	× Selbstung m. Kastr.	× Rote Holländer
0	39,27	39,27	13,17	13,17
1	2,47	3,07	2,56	2,83
2	5,98	1,73	5,10	1,94
3	1,98	1,15	3,14	1,70
4	2,08	1,00	3,32	1,29
5	1,51	1,00	2,24	1,47
6	2,24	1,02	2,73	1,71
7	1,78	0,83	2,69	1,95
8	1,41	0,74	3,78	1,86
9	1,59	0,74	2,19	1,24
10			2,60	1,80
11			2,18	1,37
12			2,24	1,24
13			2,56	1,57
14			2,71	1,81

In den Abb. 11 und 12 verdient die deutliche Wachstumsverzögerung der Beeren aus der Selbstbefruchtung bei beiden Arten besondere Aufmerksamkeit. Während sich der Unterschied an den Wachstumskurven der Beeren (Kurven 1 a und 2 a) nur wenig bemerkbar macht, tritt er an den Wachstumskurven der Samen (Kurven 1 b und 2 b) um so stärker hervor. Ein meßbarer Zuwachs ist für die Fremdungssamen sowohl bei den Schwarzen als auch bei den Roten Johannisbeeren in der zweiten Woche nach der Bestäubung vorhanden, für die Selbstungssamen aber erst von der dritten Woche an.

Die aufgetretenen Unterschiede zeigen eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den cytologischen Untersuchungen. Die Wachstumsverzögerung der Selbstungssamen kann durch ihre langsame Entwicklung nach erfolgter Befruchtung erklärt werden. Hiermit dürfte auch der teils sehr hohe Nachblütefruchtfall der Johannisbeeren in einem engen Zusammenhang stehen. Diese Vermutung kann durch die folgenden Untersuchungen eine Stütze erhalten.

In Tabelle 5 sind die Quotienten $\frac{\text{Fruchtgewicht}}{\text{Samengewicht}}$ für jede Probeentnahme zusammengestellt worden. Sie läßt erkennen, daß eine Woche nach der Bestäubung für beide Arten der Quotient $\frac{y}{x}$ der Fremdung über dem der Selbstung liegt. Während dieser bei der Fremdung sukzessiv kleiner wird, erreicht er bei der Selbstung nach zwei Wochen ein Maximum. Dieser Quotientenverlauf läßt deutlich werden, daß ein Wachstum der

jungen Beere vorerst mehr oder weniger unabhängig von der Samenentwicklung erfolgt. Der hohe Quotient für die Selbstungsbeeren zwei Wochen nach der Bestäubung drückt ein Mißverhältnis aus, das bei der Umstellung vom samenunabhängigen zum samenabhängigen Beerenwachstum ein Wuchsstoffdefizit zur Folge haben muß. Die Größe dieses Defizits kann für den Nachblütefruchtfall entscheidend sein. Dieser Ausdeutung fehlt jedoch noch der Beweis durch das Experiment.

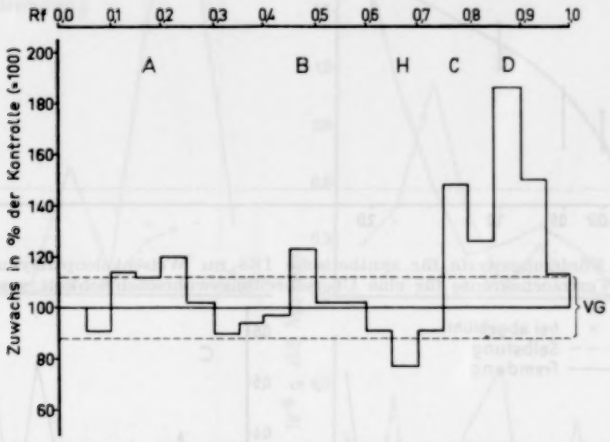


Abb. 13. Entwicklung eines Chromatogramms Heinemanns Spätlese × Rote Holländer vom 25. Juni 1956 im Weizenkoleoptilzylinder-Test. *VG* Vertrauensgrenze für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 %

Die im vorangegangenen Abschnitt nochmals veranschaulichten Unterschiede in der Samenentwicklung zwischen Selbstung und Fremdung und ihre hypothetische Deutung mußten nun in den Wuchsstoffuntersuchungen bestätigt werden.

Die Entwicklung der Versuchschromatogramme im Weizenkoleoptilzylinder-Test ergab vier verschiedene Förderungs- und eine deutliche Hemmzone. Die Abb. 13 stellt eine derartige Entwicklung eines Chromatogrammes dar. Die Wuchsstoffe, welche die vier Förderungszonen ergaben, wurden mit den großen Buchstaben A, B, C und D benannt, der Hemmstoff mit H.

In Abb. 14 ist die Wirkkurve für die synthetische IES dargestellt. Der hohe prozentuale Zuwachs gegenüber der Kontrolle erklärt sich aus der Addition der einzelnen Zuwachswerte je Chromatogramm, da sich der Förderungsbereich bei höheren IES-Konzentrationen über mehrere Chromatogrammteilstücke erstreckte. Aus dem Vergleich der jeweiligen Förderungswerte für „A", „B", „C" und „D" mit dieser Eichkurve ergaben sich die IES-äquivalenten Wuchsstoffmengen für die vier verschiedenen Wuchsstoffe, die in Abb. 15 und 16 aufgeführt sind.

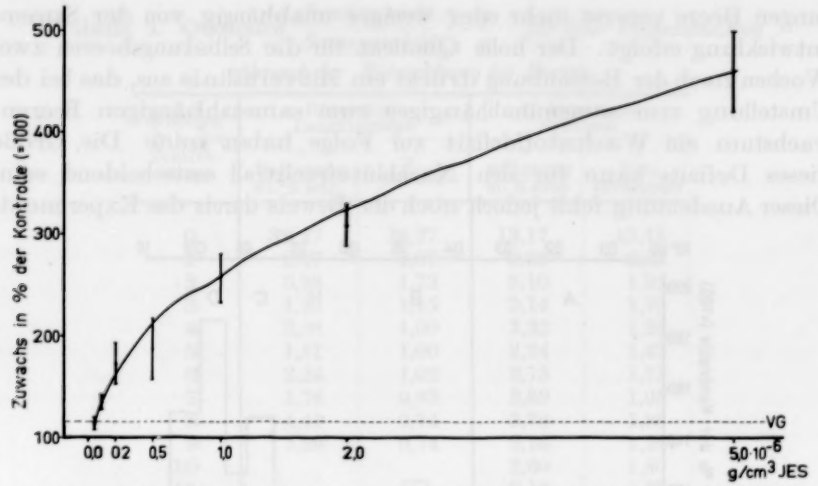


Abb. 14. Förderungswerte für synthetische IES im Weizenkoleoptilzylinder-Test. *VG* Vertrauensgrenze für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 %

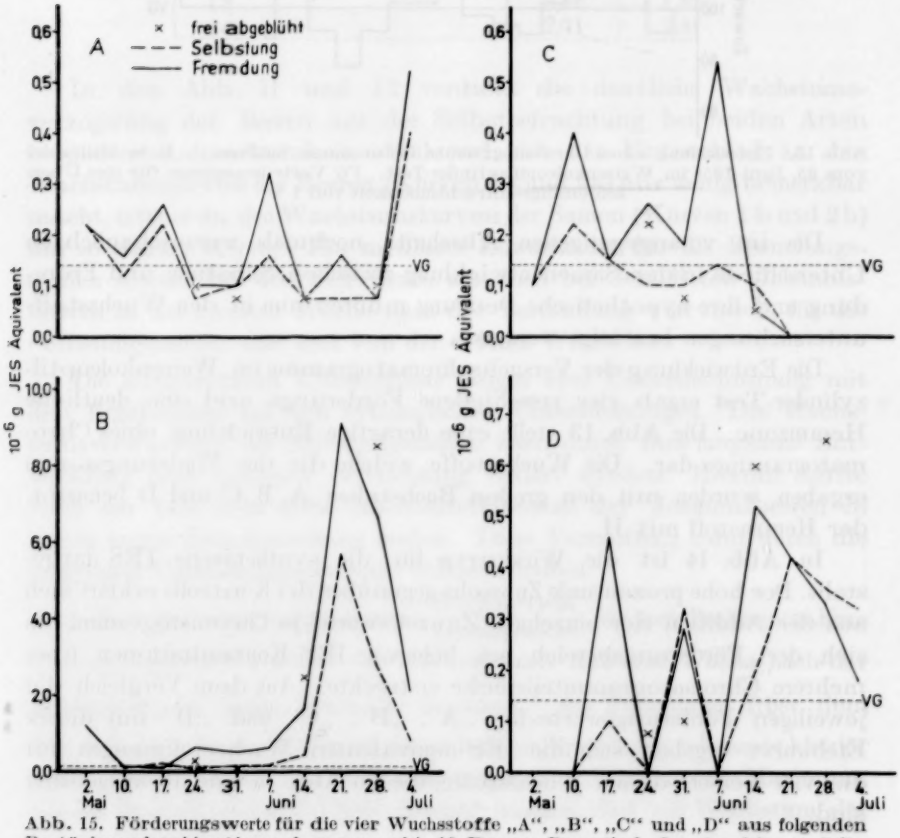


Abb. 15. Förderungswerte für die vier Wuchsstoffe „A", „B", „C" und „D" aus folgenden Bestäubungskombinationen, bezogen auf je 10 Beeren: Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K., Rosenthals Langtraubige × Goliath (Fremdung), Rosenthals Langtraubige frei abgeblüht. *VG* Vertrauensgrenze für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 %

Bei einem Vergleich der Kurven der Abb. 15 und 16 ist zu erkennen, daß sich die Konzentrationsmaxima der Wuchsstoffe „C" und„ D" der einzelnen Kombinationen abwechseln mit Ausnahme der Werte der Selbstungskombination von Heinemanns Spätlese. Ein entsprechender

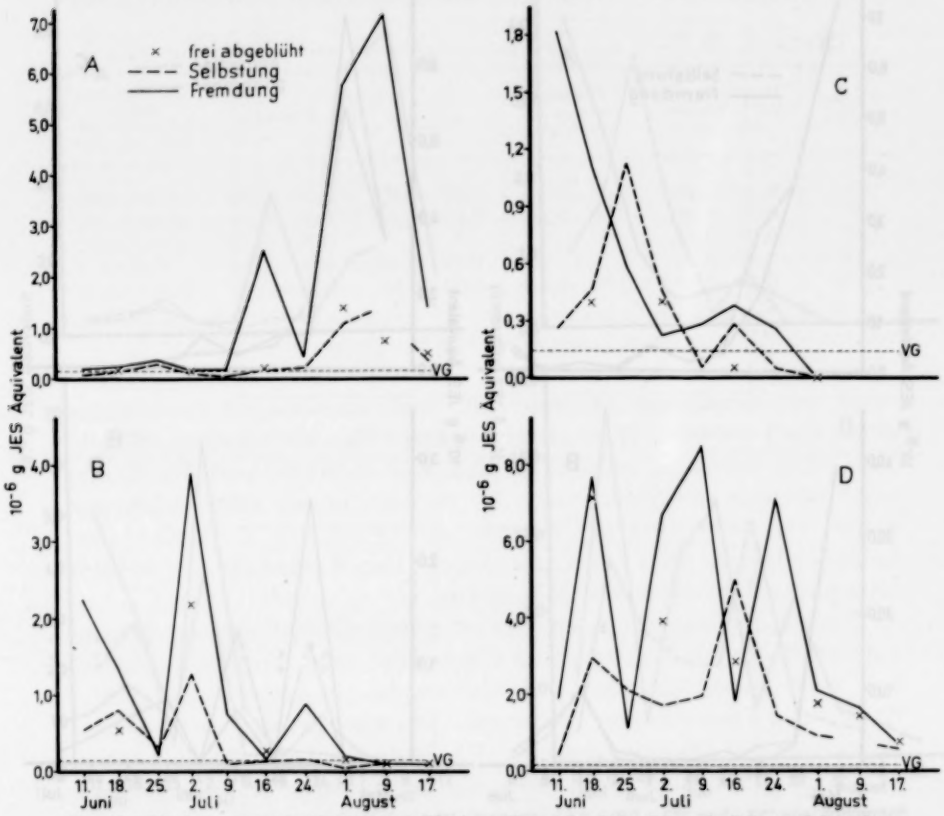


Abb. 16. Förderungswerte für die vier Wuchsstoffe „A", „B", „C" und „D" aus folgenden Bestäubungskombinationen, bezogen auf je 10 Beeren: Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K., Heinemanns Spätlese × Rote Holländer (Fremdung), Heinemanns Spätlese frei abgeblüht. *VG* Vertrauensgrenze für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1%

Wechsel liegt offenbar auch für die Wuchsstoffe „A" und „B" vor. Besonders bemerkenswert ist der Anstieg von „A" zur Beerenreife hin, der bei der Sorte Heinemanns Spätlese um vieles stärker ausgebildet ist als bei der Sorte Rosenthals Langtraubige. Daneben ist hervorzuheben, daß Heinemanns Spätlese für die Wuchsstoffe „A" und „D" etwa das 10fache gegenüber den Förderungswerten bei Rosenthals Langtraubige besitzt.

Die Abb. 15 und 16 zeigen außerdem deutlich auf, daß für die Fremdungssamen höhere Wuchsstoffkonzentrationen gemessen wurden

als für die Selbstungssamen, bezogen auf die Samen der jeweils 10 Beeren. Dieses Ergebnis mußte auch im Hinblick auf die größeren Beeren und den höheren Samengehalt der Fremdungsbeeren erwartet werden.

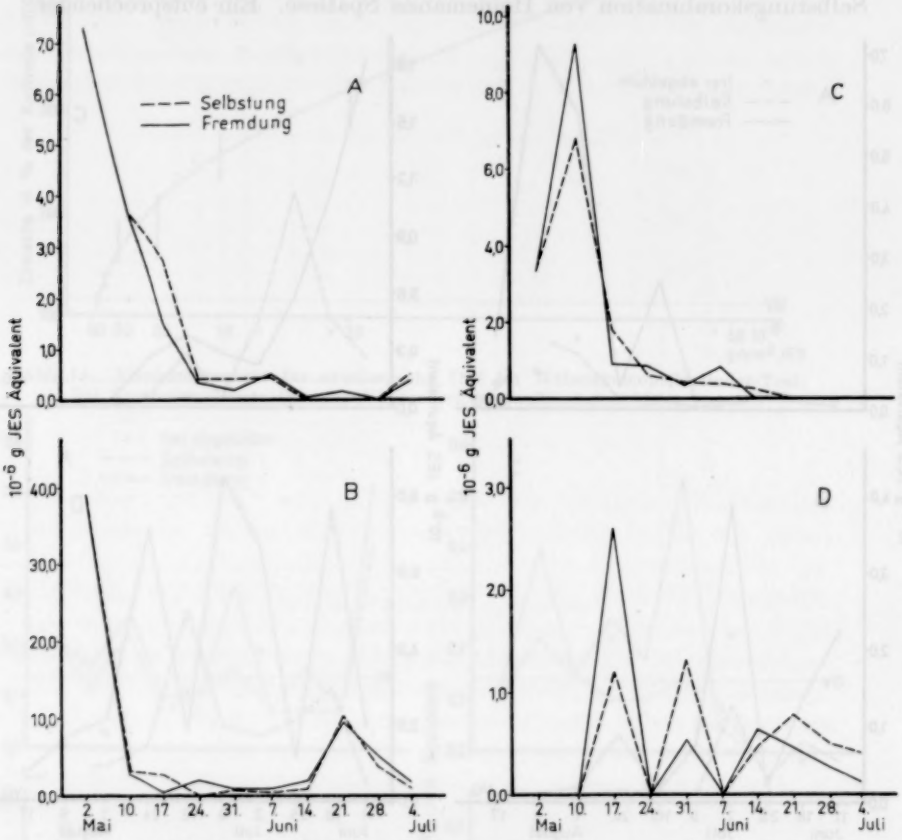


Abb. 17. Förderungswerte für die vier Wuchsstoffe „A", „B", „C" und „D" aus folgenden Bestäubungskombinationen, bezogen auf je 10 g Beerenfrischgewicht: Rosenthals Langtraubige × Selbstung m. K., Rosenthals Langtraubige × Goliath (Fremdung)

Der Hemmstoff „H" mit einem R_f-Wert in Isopropanol: NH_3:Wasser von 0,60—0,75 konnte stets zur Beerenreife verstärkt nachgewiesen werden, zeigte aber keine erkennbaren Unterschiede zwischen Selbstungs- und Fremdungssamen auf. Daher soll auf ihn nicht weiter eingegangen werden.

Durch die wöchentlichen Schwankungen im Wuchsstoffgehalt der Samen war es nicht möglich, die nur je 14tägigen Werte aus den Wuchsstoffuntersuchungen von Samen der Kombination „frei abgeblüht" zum Vergleich mit heranzuziehen. Dieser muß sich deswegen auf die beiden Kombinationen Selbstung und Fremdung beschränken.

Um einen besseren Vergleich der Konzentrationskurven für die Wuchsstoffe aus den Selbstungs- und Fremdungssamen anstellen zu können, wurden die einzelnen IES-äquivalenten Wuchsstoffmengen auf je 10 g Fruchtgewicht bezogen. Die Berechtigung dazu leitet sich aus der

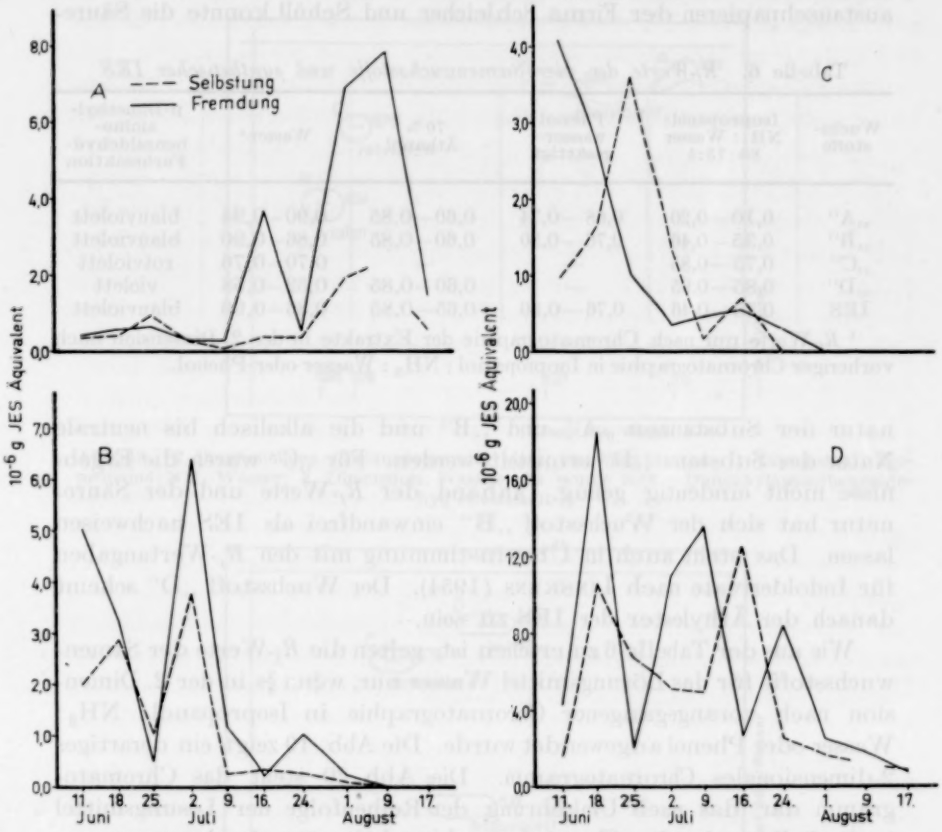


Abb. 18. Förderungswerte für die vier Wuchsstoffe „A", „B", „C" und „D" aus folgenden Bestäubungskombinationen, bezogen auf je 10 g Beerenfrischgewicht: Heinemanns Spätlese × Selbstung m. K., Heinemanns Spätlese × Rote Holländer (Fremdung)

feststehenden Tatsache ab, daß Wachstum und Wuchsstoffbildung sich gegenseitig ergänzen, d. h., eng miteinander verbunden sind.

Aus den Kurven der Abb. 17 und 18 geht hervor, daß die Wuchsstoffe „C" und „D" keine größeren Unterschiede zwischen Selbstung und Fremdung beider Sorten aufzeigen. Dagegen ist für „A" und „B" eine Differenz zwischen Selbstung und Fremdung der Sorte Heinemanns Spätlese zu erkennen. Für die Sorte Rosenthals Langtraubige sind diese Unterschiede nicht oder nur schwach vorhanden. Der Grund hierfür kann in den zum Teil sehr kleinen Initialmessungen liegen.

Zur Identifizierung der Wuchsstoffe wurde in verschiedenen Lösungsmitteln chromatographiert. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 zusammengestellt.

Aus der Trennung der Wuchsstoffe auf Anionen- und Kationenaustauschpapieren der Firma Schleicher und Schüll konnte die Säure-

Tabelle 6. *R_f-Werte der vier Samenwuchsstoffe und synthetischer IES*

Wuchsstoffe	Isopropanol: NH_3: Wasser 80:15:5	Phenol wassergesättigt	70 % Äthanol	Wasser[1]	p-Dimethylaminobenzaldehyd-Farbreaktion
„A"	0,10—0,20	0,68—0,74	0,60—0,85	0,90—0,94	blauviolett
„B"	0,35—0,46	0,76—0,80	0,60—0,85	0,86—0,90	blauviolett
„C"	0,75—0,85	—	—	0,70—0,76	rotviolett
„D"	0,85—0,95	—	0,60—0,85	0,52—0,58	violett
IES	0,35—0,46	0,76—0,80	0,65—0,85	0,86—0,90	blauviolett

[1] R_f-Werte nur nach Chromatographie der Extrakte in der 2. Dimension nach vorheriger Chromatographie in Isopropanol : NH_3 : Wasser oder Phenol.

natur der Substanzen „A" und „B" und die alkalisch bis neutrale Natur der Substanz „D" ermittelt werden. Für „C" waren die Ergebnisse nicht eindeutig genug. Anhand der R_f-Werte und der Säurenatur hat sich der Wuchsstoff „B" einwandfrei als IES nachweisen lassen. Das steht auch in Übereinstimmung mit den R_f-Wertangaben für Indolderivate nach LINSKENS (1954). Der Wuchsstoff „D" scheint danach der Äthylester der IES zu sein.

Wie aus der Tabelle 6 zu ersehen ist, gelten die R_f-Werte der Samenwuchsstoffe für das Lösungsmittel Wasser nur, wenn es in der 2. Dimension nach vorangegangener Chromatographie in Isopropanol : NH_3 : Wasser oder Phenol angewendet wurde. Die Abb. 19 zeigt ein derartiges 2-dimensionales Chromatogramm. Die Abb. 20 stellt das Chromatogramm dar, das nach Umkehrung der Reihenfolge der Lösungsmittel in der 2-dimensionalen Chromatographie erhalten wurde.

Während die R_f-Werte für die Substanzen „C" und „D" in beiden Lösungsmitteln — in der einen wie in der anderen Reihenfolge angewendet — praktisch gleich blieben, zeigten „A" und „B" erhebliche Unterschiede. Wenn der Extrakt direkt in Wasser chromatographiert wurde, so besaßen „A" und „B" niedrigere R_f-Werte, als für die freien Substanzen zu erwarten waren. Die biologische Entwicklung eines derartigen Wasser-Chromatogramms — Abb. 21 — zeigte auch keinerlei Förderung im R_f-Wertbereich der IES von 0,85—0,95.

Diese Tatsache in Verbindung mit dem unterschiedlichen Wuchsstoff-Fruchtgewicht-Verhältnis für die Wuchsstoffe „A" und „B" zwischen Selbstungs- und Fremdungssamen — Abb. 17 und 18 — machten es wahrscheinlich, daß „A" und „B" nicht frei, sondern in irgendwelchen

chemischen Verbindungen in den Samen vorliegen müssen. Zur Natur dieser Verbindungen — „A"-Komplex („AK") und „B"-Komplex („BK") — kann vorläufig nur gesagt werden, daß es sich hierbei um keine Eiweißverbindung handeln kann, da diese während der Alkohol-

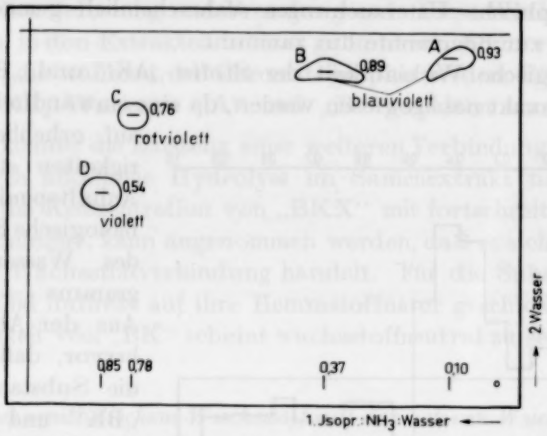


Abb. 19. 2-dimensionales Chromatogramm eines Samenextraktes. 1. Dimension: Isopropanol: NH_3: Wasser; 2. Dimension: Wasser. Es wurde mit p-Dimethylaminobenzaldehyd entwickelt

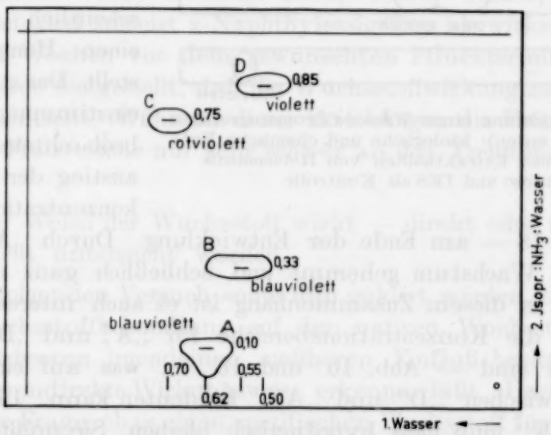


Abb. 20. 2-dimensionales Chromatogramm in der Umkehrung zu Abb. 19. 1. Dimension: Wasser; 2. Dimension: Isopropanol: NH_3: Wasser

extraktion gefällt worden wäre und derartige Verbindungen in Äther unlöslich sind. Beide Substanzen „AK" und „BK" sind gegen heiße NaOH stabil.

Es sei hier noch auf eine weitere Verbindung von „BK" aufmerksam gemacht. Wurde nämlich der in Wasser überführte Alkoholextrakt mit Äther erschöpfend ausgeschüttelt, bis kein „BK" mehr nachweisbar

war, anschließend unter Zugabe von NaOH im Thermostaten eine Stunde bei + 80° C hydrolysiert, so konnte nach Ansäuerung der wäßrigen Lösung wiederum „BK" mit Äther ausgeschüttelt werden. Der ursprüngliche Komplex wurde „BKX" benannt. Es konnte durch chromatographische Untersuchungen wahrscheinlich gemacht werden, daß „BKX" zur Beerenreife hin zunimmt.

Die biologische Wirksamkeit der Stoffe „AK" und „BK" konnte bisher nicht exakt nachgewiesen werden, da eine einwandfreie Trennung auf erhebliche Schwierigkeiten stieß. Einen Anhaltspunkt bietet die biologische Entwicklung des Wasser-Chromatogramms — Abb. 21. Aus der Abb. 20 geht hervor, daß sich dabei die Substanzen „AK," „BK" und „D" überlagern, „AK" jedoch den größten R_f-Wert besitzt. Danach ist es wahrscheinlich, daß „AK" einen Hemmstoff darstellt. Das steht in Übereinstimmung mit dem beobachteten Kurvenanstieg der Wuchsstoffkonzentration für „A" — Abb. 17 und 18 — am Ende der Entwicklung. Durch „AK" scheint nämlich das Wachstum gehemmt und schließlich ganz unterbunden zu werden. In diesem Zusammenhang ist es auch interessant festzustellen, daß die Konzentrationsbereiche für „A" und „D" für beide Arten gleich sind — Abb. 16 und 15 —, was auf eine Wechselbeziehung zwischen „D" und „AK" hindeuten kann. Die Wirksamkeit von „BK" muß ganz hypothetisch bleiben. Sie müßte, abgeleitet aus ihrem Vorkommen während der Entwicklung, wuchsstoffneutral sein.

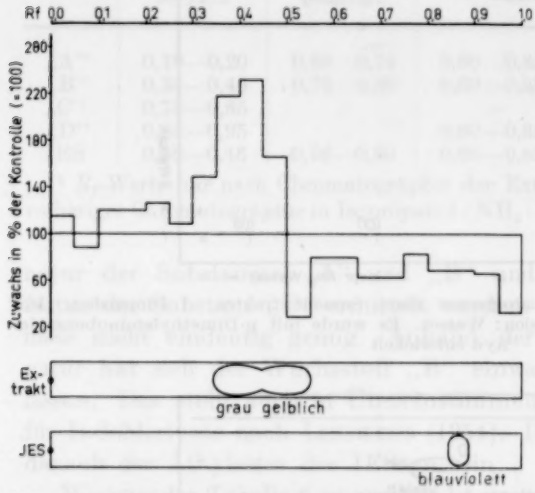


Abb. 21. Entwicklung eines Wasser-Chromatogramms (von oben nach unten): biologische und chemische Entwicklung zweier Extrakthälften von Heinemanns Spätlese und IES als Kontrolle

Zusammenfassend kann folgendes herausgestellt werden. Die Wuchsstoffe „C" und „D" kommen in den Samen in freier Form vor, was aus der Übereinstimmung ihrer R_f-Werte des 2-dimensionalen Chromatogramms — Abb. 19 — und seiner Umkehrung — Abb. 20 — hervorgeht. Aus dem Kurvenverlauf für die auf das Fruchtgewicht bezogenen Wuchsstoffkonzentrationen — Abb. 17 und 18 — kann geschlossen werden, daß „C" und „D" direkt für das Fruchtwachstum verantwortlich sind.

Der Wuchsstoff „A" zeigt dagegen ein maximales Auftreten zum Ende der Entwicklung, während „B" sich ähnlich den Kurven für „C" und „D" verhält. Daneben wiesen „A" und „B" in ihren Konzentrationen, bezogen auf das Fruchtgewicht, zum Teil wesentliche Unterschiede zwischen Selbstung und Fremdung auf. Diese Wuchsstoffe „A" und „B" lagen in den Extrakten in einer gebundenen Form vor — „AK" und „BK" —, die während der Chromatographie in dem Lösungsmittel Isopropanol: NH_3: Wasser zu „A" und „B" gespalten wurden.

Daneben konnte die Existenz einer weiteren Verbindung von „BK", „BKX", durch alkalische Hydrolyse im Samenextrakt nachgewiesen werden. Da die Konzentration von „BKX" mit fortschreitender Reife der Beeren zunimmt, kann angenommen werden, daß es sich hierbei um eine inaktive Wuchsstoffverbindung handelt. Für die Substanz „AK" kann direkt und indirekt auf ihre Hemmstoffnatur geschlossen werden. Die Wirksamkeit von „BK" scheint wuchsstoffneutral zu sein.

4. Reaktion von synthetischem Wuchsstoff auf den nativen Wuchsstoffgehalt

Synthetischer Wuchsstoff wird schon lange in der Praxis angewendet, um den Vorerntefruchtfall bei Äpfeln und Pflaumen zu verhindern (Barlow 1953; Bömeke 1951, 1955a, 1955b; Luckwill 1953b). Dabei wird zumeist α-Naphthylessigsäure als wirksames Agens zwei bis drei Wochen vor dem gewünschten Pflücktermin gespritzt. Empirisch wurde festgestellt, daß die Wuchsstoffwirkung nach zwei bis drei Wochen erlischt. Während dieser Zeit hängen die Früchte so fest, daß sich die Fruchtstiele nur sehr schwer an den Trennungszonen ablösen lassen.

In welcher Weise der Wuchsstoff wirkt — direkt oder indirekt —, ist bisher nicht untersucht worden.

Mit dem folgenden Versuch sollte nun geklärt werden, ob eine synthetische Wuchsstoffbehandlung auf den nativen Wuchsstoffhaushalt von Johannisbeeren irgendeinen meßbaren Einfluß besitzt, d. h. ob sich evtl. eine indirekte Wirkungsweise erkennen läßt. Darüber hinaus ging es um die Frage, ob es einen spezifischen Wuchsstoff für die Fruchtabtrennung bzw. für ihre Verhinderung gibt, wie ihn Wright (1956) aus seinen Untersuchungen für die Schwarzen Johannisbeeren fordert.

Die α-Naphthylessigsäure wurde in einer Verdünnung von 10^{-5} g/cm³ auf die Beeren gespritzt. Aus arbeitstechnischen Gründen waren diese Versuche nur an der Sorte Heinemanns Spätlese „frei abgeblüht" — auf 4 Beeren je Traube vereinzelt — durchführbar. Die Abb. 22 zeigt das Ergebnis. Vier Tage nach der Behandlung ist ein Anstieg der Wachstumswerte für „A" (= „AK") zu verzeichnen, der acht Tage

nach der Behandlung von einem weit größeren Anstieg des Wuchsstoffes „D" abgelöst wird. Die Wuchsstoffe „B" und „C" waren nicht nachweisbar.

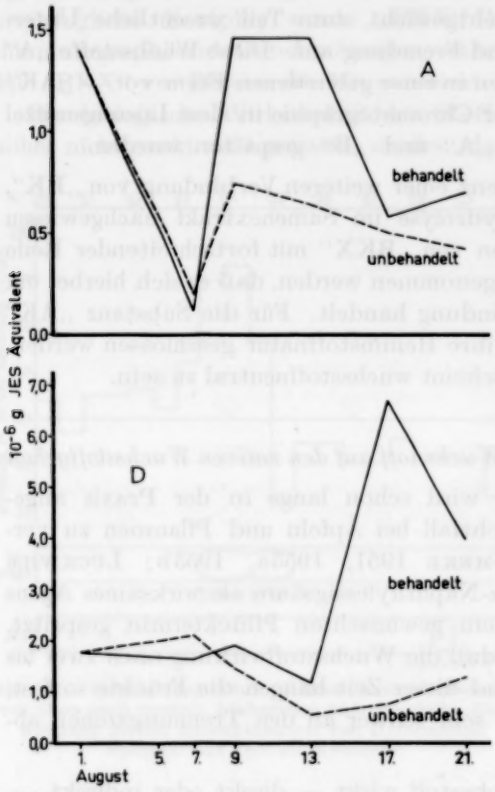


Abb. 22. Verlauf der Wuchsstoffkonzentrationen in den Samen von Heinemanns Spätlese nach einer Behandlung der Beeren — „frei abgeblüht" — mit α-Naphthylessigsäure

Zur Ausdeutung des Kurvenverlaufes wird wiederum die Hemmstoffnatur von „AK" herangezogen. Die Wuchsstoffspritzung bewirkt einen Wuchsstoffüberschuß, der die Bildung des Wuchsstoffantagonisten „AK" zur Folge hat. Der weitere Verlauf scheint die ausgesprochene Vermutung (s. S. 548) zu bestätigen, daß „AK" und „D" in einer Wechselbeziehung zueinander stehen.

Die direkte Wirkung des synthetischen Wuchsstoffes unmittelbar nach der Behandlung wird durch eine indirekte Wirkung — Konzentrationsanstieg des nativen Wuchsstoffes „D" — in der zweiten Woche abgelöst, die in der dritten Woche ausklingt.

Wenngleich durch die Ergebnisse die Untersuchungen des Vorjahres bestätigt werden, wäre es zu früh, weitere Schlüsse ziehen zu wollen. Wichtig scheint die Tatsache, daß überhaupt ein meßbarer Einfluß des synthetischen Wuchsstoffes auf die nativen Wuchsstoffe besteht.

Diskussion

In Verbindung mit dem Problem des Nachblüte- und Vorerntefruchtfalls besonders der Schwarzen Johannisbeeren wurden von NEUMANN (1953, 1955a), TEAOTIA und LUCKWILL (1956) und WRIGHT (1956) cytologische Untersuchungen angestellt. Da alle jedoch von Beeren aus freier Abblüte oder von zusätzlich selbstbestäubten Blüten

ausgingen, konnten sie stets nur die für die Selbstung typischen Degenerationen und geringe Samenentwicklung beobachten. Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen dieses Verhalten der Selbstungssamen. Eine Beurteilung der Entwicklung ist jedoch erst nach dem Vergleich mit der Samenentwicklung nach Fremdbefruchtung möglich. Die Selbstungssamen entwickeln sich anfänglich wesentlich langsamer als die Fremdungssamen, was sicherlich für die ganze Entwicklungsdauer gilt, nur cytologisch nicht einwandfrei meßbar bleibt.

Über Beziehungen des Wuchsstoffhaushaltes bei Schwarzen und Roten Johannisbeeren zur Fruchtentwicklung berichtet Neumann (1955a). Sie beschränkt sich dabei auf die ersten 4 Wochen nach der Blüte. Über die ganze Entwicklungsperiode erstrecken sich die Wuchsstoffuntersuchungen von Wright (1956) an der Schwarzen Johannisbeersorte Seabrook's Black. Die Ätherextrakte wurden in Butanol: NH_3:Wasser chromatographiert und die Chromatogramme einmal mit dem Weizenkoleoptilzylinder-Test und anderseits mit dem Coleus-„abscission-test" (Luckwill 1956) biologisch entwickelt. Dabei stellte er drei Wuchsstoffe — „auxin 1, 2, 3" — und einen Hemmstoff fest, die mit den Substanzen „B", „C", „D" und „H" dieser Arbeit übereinstimmen. Dem „B" vergleichbaren Wuchsstoff konnte auch er als IES identifizieren.

„Auxin 1" und „auxin 3" — vergleichbar mit „B" und „C" — sollen nach Wright mit dem meristematischen Wachstum des Embryos und Endosperms korrelativ verbunden sein, „auxin 2" — vergleichbar mit „C" — dagegen mit der Anhäufung von Reserveeiweiß im Endosperm. Dieser Wuchsstoff soll das Fruchttrennungsgewebe kontrollieren. Das schließt er aus der negativen Korrelation zwischen dem Fruchtfall und „auxin 2". Andererseits aber zeigen sowohl „auxin 1" als auch „auxin 3" zum Zeitpunkt des größten Fruchtfalls ebenfalls Konzentrationsminima. Die Schlußfolgerung ist daher nicht eindeutig genug. Die vorläufigen Ergebnisse aus den vorliegenden Untersuchungen nach der Behandlung reifender Beeren mit α-Naphthylessigsäure deuten darauf hin, daß „C" — vergleichbar mit „auxin 2" — keine spezifische Wirkung auf das Trennungsgewebe besitzen kann, da während des Versuches nur „A" und „D" festgestellt werden konnten. Andere Wuchsstoffe müssen mindestens ebenfalls eine retardierende Wirkung auf die Abtrennung der Früchte besitzen.

Die Regressionsuntersuchungen — $\frac{\text{Fruchtgewicht}}{\text{Samenzahl}}$ zu Samenzahl je Beere — konnten ebenfalls einen Unterschied zwischen Selbstung und Fremdung aufdecken, der in einem verschieden steilen Anstieg ihrer Regressionskurven zum Ausdruck kommt. Nach der eingangs gemachten Annahme, daß die Wuchsstoffe der Samen das Fruchtwachs-

tum direkt beeinflussen, mußten diese Unterschiede in einer verschiedenen Wuchsstoffproduktion der Selbstungs- und Fremdungssamen ihre Ursache haben.

Es gilt als gesichert, daß die Fremdungssamen mehr Wuchsstoffe produzieren als die Selbstungssamen. Die stärkere Hemmung des Fruchtwachstums der Fremdungs- gegenüber den Selbstungsbeeren — mit Ausnahme der ersten Samenklasse — fand in den Wuchsstoffuntersuchungen ihre Bestätigung, indem für die Fremdung größere Mengen an gebundenen Wuchsstoffen — „AK" und „BK" — nachgewiesen werden konnten. Wenn auch der Beweis durch einen eindeutigen biologischen Test nicht erbracht werden konnte, liegen doch Hinweise vor, daß „AK" einen Hemmstoff darstellt. Die Bildung von „AK" und „BK" muß nach den Ergebnissen die Folge einer überoptimalen Wuchsstoffproduktion sein, und diese Verbindungen müssen in das physiologische Geschehen eingreifen. Dafür sind Anhaltspunkte vorhanden:

1. Der enorme Anstieg von „A" nach der Wuchsstoffbehandlung mit α-Naphthylessigsäure kann in diesem Sinne gedeutet werden, wie es bereits weiter oben geschah (s. S. 549).

2. Der Konzentrationsverlauf von „A" für Rosenthals Langtraubige — Abb. 15 — gibt einen interessanten Aufschluß. Vergleicht man nämlich die Konzentrationsmaxima mit dem Wachstumsrhythmus der befruchteten Samen, so zeigt sich, daß diese am 17. Mai — 13 Tage nach der Bestäubung — und am 7. Juni — 34 Tage nach der Bestäubung — mit Zeiten starker embryonaler Zellteilung übereinstimmen. Trotz der z. T. geringen Förderungswerte muß die Realität dieser Zusammenhänge angenommen werden, nachdem auch WRIGHT (1957, briefliche Mitteilung) einen mit „A" vergleichbaren Wuchsstoff 10 und 17 Tage und 38 Tage nach der Vollblüte aufgefunden hat. Die Förderungswerte lagen bei ihm zwar unterhalb der Signifikanzgrenze von 5%; doch allein die Tatsache, daß ein paralleles Verhalten aufgefunden wurde, spricht für den möglichen Zusammenhang von Wuchsstoffüberschuß und „AK"-Bildung.

3. Der Verlauf der Regressionskurven für Selbstungs- und Fremdungsbeeren beider Arten kann damit erklärt werden. Die Wuchsstoffproduktion der Selbstungssamen bei 1—10 Samen je Beere der Schwarzen Johannisbeersorte und der bei einem Samen je Beere der Roten Johannisbeersorte bleibt unter dem Wuchsstoffoptimum. In beiden Fällen ist durch die nachgewiesene höhere Wuchsstoffproduktion der Fremdungssamen eine Fruchtgewichtssteigerung zu verzeichnen. Im weiteren Verlauf der Regressionskurven wird das Fruchtwachstum in Relation zur Samenzahl bei den Fremdungen stets stärker gehemmt als bei den Selbstungen. Die größere Hemmwirkung stellt somit ein indirektes Maß für die höhere Wuchsstoffproduktion dar. Dies ist mithin

auch eine Erklärung für die negative Korrelation innerhalb der Kombinationen: Je größer die Anzahl Samen je Beere ist, um so größer ist auch die produzierte Wuchsstoffmenge, und sie hat eine stärkere Hemmung des Fruchtwachstums zur Folge.

Die Literatur über Wuchsstoffuntersuchungen ist sehr umfangreich. An dieser Stelle kann es daher nicht die Aufgabe sein, eine Vollständigkeit anzustreben; vielmehr soll im folgenden eine Auswahl getroffen werden und nur die Ergebnisse der Wuchsstoffkomplexe anhand der Literatur diskutiert werden.

Die Ergebnisse der vom Wuchsstoff abhängigen Hemmung scheinen die Hemmstoffhypothese — Hypothese der indirekten Hemmung — nach Snow (1937) zu bestätigen. Diese besagt, daß unter Wuchsstoffeinwirkung ein Hemmstoff entsteht, der im Gegensatz zum allein basipetalen Wanderungsvermögen der freien Wuchsstoffe auch akropetal wandern kann. 1939 konnte Snow zeigen, daß außer dem Wuchsstoff noch ein zweiter Stoff an der Bildung des Hemmstoffes beteiligt ist. Steward (1939) hat einen derartigen Hemmstoff im Ätherextrakt von *Raphanus sativus* — Keimpflanzen und Blätter — nachweisen können, der nach Hydrolyse einen Wuchsstoff ergab. Danach haben mehrere Autoren [Voss (1939), Funke und Söding (1948), Pohl und Tegethoff (1949), Meyer (1950), Tegethoff (1950), Pohl (1951), Vogt (1951), Raadts (1952) und Söding (1952)] über ähnliche Stoffe berichtet. Sie fanden für Mais, Hafer und Roggen — Karyopsen und Keimpflanzen — und Kartoffelknollen inaktive Wuchsstoffe, die teils im Avenakrümmungs-Test und im Wachstums-Test eine Hemmung auslösten und die durch Hydrolyse oder oft auch nur durch 20—24stündiges Aufbewahren starke Wuchsstoffwirkung ergaben. Das „Antiauxin" der Kartoffelknolle (Funke und Söding 1948, Meyer 1950, Söding 1952) ist gegen heißes NH_4OH beständig.

Auch „AK" und „BK" scheinen in heißer Lauge stabil zu sein. In der Reaktionsweise liegt so offenbar eine Übereinstimmung mit dem „Antiauxin" vor.

Libbert (1954, 1955a, 1955b, 1956) gelang es, einen „Korrelationshemmstoff" aus Erbsen zu isolieren, der proportional zu der künstlich zugeführten synthetischen IES gebildet wurde, neutral reagierte und nach Hydrolyse einen sauren Wuchsstoff ergab.

Es besteht wohl kein Zweifel, daß in „AK" und „BK" der vorliegenden Arbeit entsprechende Wuchsstoffverbindungen gefunden wurden. Wenn auch ihre biologische Wirksamkeit bisher nicht eindeutig nachweisbar war, so spricht doch die Tatsache, daß nach Hydrolyse zwei saure Wuchsstoffe frei wurden — davon einer mit IES identisch — für eine Übereinstimmung.

Es ist bekannt, daß Wachstum und Wuchsstoffproduktion oder -aktivierung voneinander abhängig sind. Die Arbeiten, die sich seit den Untersuchungen von SNOW (1937) mit der Frage beschäftigten, zeigten auf, daß in den Pflanzen Wuchsstoffantagonisten auftreten, die wenigstens zum Teil durch Wuchsstoffeinwirkung direkt entstehen und selbst Wuchsstoffmoleküle enthalten. Damit können wir für die Pflanze ein „gepuffertes" Wuchsstoff-Hemmstoff-System annehmen, das auch bei der Entwicklung der Johannisbeeren eine Rolle spielen dürfte.

Zusammenfassung

Der vorliegenden Arbeit oblag, bestehende Unterschiede in der Entwicklung von Selbstungs- und Fremdungssamen bei partiell selbststerilen Johannisbeersorten — *Ribes nigrum* L. und *Ribes petraeum* Wulf. × *R. multiflorum* Kit. — aufzudecken und ihren Einfluß auf die Fruchtentwicklung zu untersuchen. Es wurden in den Jahren 1955 und 1956 cytologische und wuchsstoffphysiologische Untersuchungen mit folgenden Ergebnissen durchgeführt:

1. Die Selbstungssamen beider Arten weisen gegenüber den Fremdungssamen einen verzögerten Entwicklungsbeginn auf.

2. Die Regressionskurven für den Fruchtgewichtsanteil je Samen zur Samenzahl je Beere ließen Unterschiede zwischen Selbstungs- und Fremdungsbeeren entsprechend jener aus den cytologischen Untersuchungen erkennen. Sie konnten anhand der Wuchsstoffuntersuchungen erklärt werden: Mit langsamerer Entwicklung der Selbstungssamen geht eine geringere Wuchsstoffproduktion einher.

3. In den Wuchsstoffuntersuchungen konnten 4 verschiedene Wuchsstoffe — „A", „B", „C", „D" — und ein Hemmstoff — „H" — nachgewiesen werden, die das Fruchtwachstum beeinflussen. Eindeutig konnte nur „B" als β-Indolylessigsäure identifiziert werden.

4. Die Wuchsstoffe „C" und „D" stehen für die Selbstungs- und Fremdungsbeeren im gleichen Verhältnis zum Fruchtgewicht. Sie kommen in den Samen in freier Form vor und scheinen die aktiven Wuchsstoffe des Fruchtwachstums zu sein.

Die sauren Wuchsstoffe „A" und „B" treten nicht in freier Form in den Samen auf, sondern in Form von Komplexen — „AK" und „BK".

5. Mit dem Nachweis von „AK" und „BK" konnte erstmalig papierchromatographisch die Existenz von Wuchsstoffverbindungen aufgezeigt werden, die nach Hydrolyse in ammoniakalischen Lösungsmitteln zwei Wuchsstoffe — „A" und „B" = IES — ergaben. „AK" und „BK" sind ätherlöslich und gegen heiße NaOH beständig.

Daneben konnte eine weitere Wuchsstoffverbindung — „BKX" — in den Samenextrakten nachgewiesen werden, die erst nach Hydrolyse

mit heißer NaOH den Komplex „BK" ergab. Alle drei Substanzen — „AK", „BK" und „BKX" — sind keine Eiweißverbindungen.

6. Es sind Hinweise vorhanden, daß „AK" einen Hemmstoff darstellt und „BK" vermutlich wuchsstoffphysiologisch inaktiv ist. In „BKX" besitzt der Samen offenbar eine inaktive Wuchsstoffreserve.

7. „AK" und „BK" zeigten Konzentrationsunterschiede zwischen Selbstungs- und Fremdungsbeeren auf. Die Bildung beider Substanzen scheint auf einer überoptimalen Wuchsstoffproduktion zu beruhen.

8. Eine Wuchsstoffbehandlung der Beeren mit α-Naphthylessigsäure besaß einen meßbaren Einfluß auf die nativen Wuchsstoffe. Damit ist ein erster Schritt für das Verständnis der Wirkung von synthetischen Wuchsstoffen getan.

Literatur

Barlow, H. W. B.: The importance of abscission in fruit production. Rep. of the 13. Int. Hort. Congr. 1952, pp. 145—152. London 1953. — Bömeke, H.: Versuche mit Hormonen im Obstbau. Mitt. Obstbauversuchsringes Altes Land **6**, 142—143 (1951). — Hormonforschung im Obstbau. Landw.-Angew. Wiss. **11**, Sonderh., 46—50 (1955a). — Über den Stand der Hormonanwendung im Obstbaugebiet der Niederelbe. Rep. of the 14. Int. Hort. Congr. 1955 (b), pp. 898—905. — Dollfus, H.: Wuchsstoffstudien. Planta (Berl.) **25**, 1—21 (1936). — Fisher, R. A.: Statistical methods for research workers. 12. edit. Edinburgh 1954. — Funke, H., u. H. Söding: Über Wuchsstoff-Hemmstoffsysteme des Haferkornes und der Kartoffelknolle. Planta (Berl.) **36**, 341—370 (1948). — Günthart, A.: Über die Blüten und das Blühen der Gattung Ribes. Dtsch. bot. Ges. **33**, 75—91 (1915). — Gustafson, F. G.: Auxin distribution in fruits and its significance in fruit development. Amer. J. Bot. **26**, 189—194 (1939). — Klämbt, H. D.: Die Befruchtungsverhältnisse bei Schwarzen und Roten Johannisbeeren und ihr Einfluß auf Entwicklung und Wuchsstoffhaushalt der Früchte. Diss. Bonn 1957. — Knuth, P.: Handbuch der Blütenbiologie. Leipzig 1898. — Kobel, F.: Lehrbuch des Obstbaues auf Physiologischer Grundlage, 1. Aufl. Berlin 1931. — Ledeboer, M., and I. Rietsema: A case of unfruitfulness in black currants. J. Pomol. a. Horticult. Sci. **15**, 191—204 (1937). — Unfruitfulness in black currants. J. Pomol. a. Horticult. Sci. **18**, 177—181 (1940). — Libbert, E.: Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. Planta (Berl.) **44**, 286—318 (1954). — Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. Planta (Berl.) **45**, 68—81 (1955a). — Nachweis und chemische Trennung des Korrelationshemmstoffes und seiner Hemmstoffvorstufe. Planta (Berl.) **45**, 405—425 (1955b). — Die Hydrolyse des Korrelationshemmstoffes zu Auxin. Planta (Berl.) **46**, 256—271 (1956). — Linskens, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin 1955. — Luckwill, L. C.: The hormone content of the seed in relation to endosperm development and fruit drop in the apple. J. Horticult. Sci. **24**, 32—44 (1948). — Fruit drop in the apple in relation to seed development. Ann. Appl. Biol. **36**, 567 (1949). — Application of paper chromatography to the separation and identification of auxins and growth inhibitors. Nature (Lond.) **169**, 375 (1952). — Studies of fruit development in relation to plant hormones. I. J. Horticult. Sci. **28**, 14—24 (1953a). — The mechanism of fruit drop in pome fruits and its control by synthetic growth substances. Rep. of the 13. Int. Hort. Congr. 1952, pp. 223—229. London 1953 (b). — Two

methods for the bioassay of auxins in the presence of growth inhibitors. J. Horticult. Sci. **31**, 89—98 (1956). — Meyer, E.: Über den Wuchsstoff-Hemmstoffgehalt gesunder und abbaukranker Kartoffeln. Planta (Berl.) **38**, 213—232 (1950). — Müller-Thurgau, H.: Die Abhängigkeit der Ausbildung der Traubenbeeren und einiger anderer Früchte von der Entwicklung der Samen. Landwirtsch. Jb. Schweiz **12**, 135—205 (1898). — Neumann, U.: Untersuchungen über die Ursache des vorzeitigen Früchtefalls bei Schwarzen Johannisbeeren. Arch. Gartenbau **1**, 1—49 (1953). — Über Beziehungen zwischen Wuchsstoffgehalt und Fruchtentwicklung bei Johannisbeeren. Arch. Gartenbau **2**, 274—294 (1955a). — Die Bedeutung der Befruchtungsverhältnisse und Pflegemaßnahmen für den vorzeitigen Früchtefall bei Schwarzen Johannisbeeren. Arch. Gartenbau **3**, 339—354 (1955b). — Nitsch, J. P.: Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. Amer. J. Bot. **37**, 211—215 (1950). — Pohl, R.: Das Hemmstoff-Wuchsstoffsystem des Maisskutellums. Planta (Berl.) **39**, 105—125 (1951). — Pohl, R., u. B. Tegethoff: Der Hemmstoff des Maisskutellums, ein Wirkstoffinaktivator. Naturwiss. **36**, 319—320 (1949). — Raadts, E.: Über den inaktiven Wuchsstoff der Haferkoleoptile. Planta (Berl.) **40**, 419—430 (1952). — Rudloff, C. F., u. M. Schmidt: Untersuchungen über Kernzahl und Fruchtgewicht und deren gegenseitige Beziehungen bei einigen Apfelsorten. Züchter **23**, 44—61 (1953). — Schander, H.: Über die Ursachen von Gewichtsunterschieden bei Samen von Kernobst (Apfel und Birne). Die Beziehungen zwischen Samen und Frucht. Z. Pflanzenzüchtg **34**, 255—306 (1955a). — Über die Veränderlichkeit der Fruchtgestalt bei der Birnensorte „Conférence". Mitt. Obstbauversuchsringes Altes Land **10**, 271 bis 277 (1955b). — Schanderl, H.: Die schwarze Johannisbeere. Hess. Obstbau **11**, 24—25 (1956). — Snow, R.: On the nature of correlation inhibition. New Phytologist **36**, 283—300 (1937). — A second factor involved in inhibition by auxin in shoots. New Phytologist **38**, 210—223 (1939). — Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — Steward, W. S.: A plant growth inhibitor and plant growth inhibition. Bot. Gaz. **101**, 91—108 (1939). — Strong, W. J.: Currants and gooseberries. Ontario Dep. Agricult. Bull. **440** (1944 u. 1948). — Teaotia, S. S., and L. C. Luckwill: Fruit drop in black currants. I. Factors affecting "running off". Ann. Rep. Long Ashton Res. Stat. 1955, pp. 64—74. 1956. — Tegethoff, B.: Zur Frage der Wuchsstoffinaktivierung im Maisskutellum. Planta (Berl.) **38**, 648—682 (1951). — Tydeman, H. M.: The influence of different pollens on the growth and development of the fruit in apples and pears. II. Fruit size and seed content in relation to fruit drop. Annu. Rep., East Malling Res. Stat. **31**, 31—34 (1943). — Visser, T.: De karakteristiek van appelbloemen en -vruckten in verband met hun positie in de tros. Medd. Dir. Tuinbouw **18**, 809—822 (1955). — Vogt, E.: Über den Hemmstoff- und Wuchsstoffgehalt in Getreidewurzeln. Planta (Berl.) **40**, 145—169 (1951). — Voss, H.: Nachweis des inaktiven Wuchsstoffes, eines Wuchsstoffantagonisten und der wachstumsregulierenden Bedeutung. Planta (Berl.) **30**, 252—285 (1939). — Wellington, R., R. G. Hatton and J. Amos: The "running off" of black currants. J. Pomol. **2**, 160—198 (1921). — Wright, S. T. C.: Studies of fruit development in relation to plant hormones. III. Auxins in relation to fruit morphogenesis and fruit drop in the black currant Ribes nigrum. J. Horticult. Sci. **31**, 196—211 (1956). — Briefliche Mitteilung 1957.

Dr. rer. nat. Hans-Dieter Klämbt,
Institut für Obstbau der Universität Bonn a. Rh.,
Auf dem Hügel 6

Planta, Bd. 50, S. 557—575 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Justus Liebig-Universität Gießen

ÜBER DEN ABBAU VON INDOLDERIVATEN

II. Mitteilung

ABBAU DURCH EIN ENZYMSYSTEM AUS WEISSKOHL UND EIN VERGLEICH DER INDOLDERIVATE IN UV-BESTRAHLTEN UND UNBESTRAHLTEN WEISSKOHLPFLANZEN*

Von

GEORG HEINRICH MELCHIOR

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 13. August 1957)

A. Einleitung

In der ersten Mitteilung wurde die Photolyse von Indolderivaten im ultravioletten Licht behandelt und einleitend erwähnt, daß in der Pflanze außer einer *direkten* Photolyse auch eine *mittelbare* Einwirkung des UV-Lichtes über die Inaktivierung von Enzymen oder Enzymsystemen möglich ist (vgl. BÜNNING 1953).

Zum Studium dieser zweiten Möglichkeit wurde nach der Untersuchung der Wirkung eines IES-Oxydase-Systems auf verschiedene Indolderivate der Einfluß des UV-Lichtes auf das Enzympräparat in vitro geprüft.

Abschließend soll ein Vergleich der Indolderivate in unbestrahlten und bestrahlten Pflanzen einen Einblick in die Wirkung des UV-Lichtes in vivo geben.

B. Experimenteller Teil

I. Abbau von Indolderivaten durch ein Enzymsystem aus Weißkohl

Zur Gewinnung des Enzympräparates wurde Weißkohl gewählt (TANG und BONNER 1948), da er β-Indolaldehyd als natürliches Indolderivat enthält (v. DENFFER, BEHRENS und FISCHER 1952, JONES und TAYLOR 1957), der von TANG und BONNER (1948) und WAGENKNECHT und BURRIS (1950) als das Endprodukt der enzymatischen Zersetzung der IES angesehen wurde und ebenfalls bei der Photolyse der IES (FISCHER 1954) und des Tryptophans im ultravioletten Licht entsteht (s. I. Mitteilung).

1. Methode

a) Enzymbereitung. Das von TANG und BONNER (1948) angegebene Verfahren der Enzymbereitung wurde mit kleinen Änderungen übernommen: Nacheinander

* II. Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Justus Liebig-Universität Gießen.

wurden im Starmix insgesamt 3 kg der inneren etiolierten Blätter des Weißkohls zermahlen und der Brei in einem Leinentuch ausgepreßt. Nur beim ersten Zerkleinern wurde etwas Wasser zugesetzt. Der Saft wurde zum Zermahlen der nächsten Portion Blätter benutzt und schließlich filtriert. So wurden 1220 cm³ Saft gewonnen. Der durch Aceton (4 Teile Aceton auf 10 Teile Flüssigkeit) ausgefällte Bodensatz wurde von der überstehenden Flüssigkeit abzentrifugiert und in 600 cm³ $^1/_{15}$ mol. Phosphatpuffer nach SÖRENSEN (p_H 6,6) aufgeschwemmt. Diese Aufbereitung wurde erneut zentrifugiert und die überstehende, opalescente Flüssigkeit als Enzympräparat verwendet. Die Darstellung des Präparates erfolgte bei Zimmertemperatur und diffusem Tageslicht; die Aufbewahrung im Kühlschrank bei 0—1° C unter Zufügung einiger Tropfen Toluol.

b) Prüfung der Aktivitätskonstanz des Enzymsystems und Durchführung der Versuche. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß die Aktivität des Enzymsystems bis zum 8. Tage nach der Enzymbereitung konstant bleibt: Am 1., 3., 6., und 8. Tage nach der Bereitung des Enzympräparates wurden jeweils folgende Versuche angesetzt: 20 cm³ des Präparates wurden mit 1 cm³ einer IES-Lösung (10^{-3} g/cm³) im Dunkeln mit einigen Tropfen Toluolzusatz in einem mit Wattestopfen verschlossenen Erlenmeyerkolben bei 38° C 2 Std unter gelegentlichem Umschütteln bebrütet. Als Kontrolle diente 1 cm³ IES-Lösung in 20 cm³ Puffer, die genauso behandelt wurde. Die Extraktion der IES und ihrer Zersetzungsprodukte erfolgte ohne Trennung in eine saure und alkalische Phase durch dreimaliges 10 min langes Schütteln mit 40 cm³ peroxydfreiem Äther. Bei schlechter Trennung der Äther- und Wasserphase wurde zentrifugiert und die überstehende Ätherphase abpipettiert. Der Ätherextrakt wurde unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand 2mal mit je 0,5 cm³ Äthanol aufgenommen. Es wurden jeweils 0,1 cm³ des Extraktes chromatographiert (I. Mitteilung, s. S. 264) und die nichtzerstörte IES in Planimetereinheiten (I. Mitteilung, s. S. 270) bestimmt.

2. Versuche

a) Abbauprodukte der enzymatisch zersetzten IES. Auf die im methodischen Teil beschriebene Weise wurden bei der enzymatischen Zersetzung der IES die gebildeten Abbauprodukte untersucht. Die Aufgliederung des Extraktes erfolgte durch Papierchromatographie und Papierelektrophorese und die Identifizierung der entstandenen Produkte durch den Vergleich mit dem Verhalten der synthetischen Substanzen und deren Farbreaktionen (I. Mitteilung, S. 264—266).

Zur Kontrolle wurde einerseits IES (1 cm³ einer 10^{-3} g/cm³-Lösung) ohne Enzymzusatz in der Pufferlösung geprüft und andererseits das Enzymsystem (20 cm³) ohne IES, da möglicherweise Indolderivate in dem Enzympräparat enthalten sein konnten. Doch zeigte lediglich die 1. Kontrolle mit GORDON-WEBERS Reagens die IES-Zone. Auch mit EHRLICHS-Reagens konnte in beiden Kontrollen keiner der später beschriebenen Stoffe sichtbar gemacht werden.

Nach zweistündiger Einwirkung des Enzymsystems auf IES konnten im Chromatogramm neben unzersetzter IES sieben mit GORDON-WEBERS-Reagens färbbare Zonen nachgewiesen werden, von denen β-Indolylglykolsäure (vgl. aber die Fußnote auf S. 266 der I. Mitteilung) und β-Indolaldehyd identifiziert werden konnten (Abb. 1 dieser und Tabelle 2 der I. Mitteilung). Beim Sprühen der Streifen mit VAN ECKS-Reagens erschienen jedoch zwei gelbe Farbzonen: die Zone des

β-Indolaldehyds (R_f-Wert: 0,89) und eine weitere Zone vom R_f-Wert 0,37. Das papierelektrophoretische Verhalten zeigte eine Säure an, die in 30 min 9,3—9,7 cm, also etwas weiter als IES, zur Anode wandert. Nachdem der Sitz dieser Substanz durch das Sprühen mit VAN ECKS-Reagens bekannt war, konnte sie auch mit GORDON-WEBERS-Reagens nachgewiesen werden: Sie befindet sich am oberen Rand der IES-Zone (Abb. 1) und bewirkt dort eine dunklere Tönung. Das papierelektrophoretische Verhalten und die positive Reaktion mit VAN ECKS-Reagens weisen auf die β-Indolylglyoxylsäure hin. Die Identität mit dieser Substanz konnte durch Mischchromatogramme und -pherogramme wahrscheinlich gemacht werden. Die Säure allein ergibt mit GORDON-WEBERS-Reagens eine Gelborangefärbung, die in Gegenwart der IES kaum feststellbar ist. Zum Nachweis eignet sich deshalb besser VAN ECKS-Reagens, das zusammen mit β-Indolylglyoxylsäure Gelbfärbung ergibt (untere Nachweisgrenze: 5 γ).

Die Identifizierung einer weiteren Säure wird weiter unten behandelt werden, da die nach 2 Std gefundene Menge des Zersetzungsproduktes wohl Hinweise, doch keinen exakten Nachweis ergab (s. S. 560).

Die auf GORDON-WEBERS-Reagens positiv reagierenden, nicht identifizierten Stoffe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Der Stoff mit dem R_f-Wert 0,93 stimmt im Mischchromatogramm und -pherogramm mit „W" der Bestrahlungsversuche überein; die Färbung mit GORDON-WEBERS-Reagens ergab jedoch einen helleren Ton. Als Bezeichnung für diese Substanz wurde deshalb „W ?" (Abb. 1) gewählt. Auf Grund des R_f-Wertes und des papierelektrophoretischen Verhaltens ist es möglich, daß diese Substanz mit dem von MANNING und GALSTON (1955) bei p_H 9 extrahierten Indolderivat ihrer Fermentversuche identisch ist.

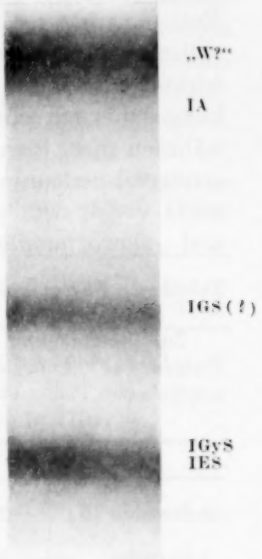


Abb. 1. Chromatogrammabschnitt einer 4 Std enzymatisch zersetzten IES-Lösung mit IES, β-Indolylglykolsäure (?) (= IGS), β-Indolaldehyd (= IA, angedeutet) und „W ?". Die bräunlich-gelbe β-Indolaldehydzone liegt am unteren Rand der rotbraunen Zone „W ?", die β-Indolylglyoxylsäure-Zone (IGyS) am oberen Rand der IES-Zone

Tabelle 1. *Bei der enzymatischen Zersetzung der IES mit* GORDON-WEBERS-*Reagens nachgewiesene, bisher nicht identifizierte Stoffe* (0,1 cm³ Extrakt aufgetragen, ICS = β-Indolcarbonsäure)

R_f-Wert	Farbe	Menge	Bezeichnung
0,26	orange-hellrot	sehr wenig	(ICS)
0,56	schmutzig-gelb	sehr wenig	?
0,75	violett	sehr wenig	?
0,93	rot	viel	„W ?"

Auf weitere Abbauprodukte, die mit GORDON-WEBERs-Reagens nicht nachweisbar sind, soll in Abschnitt d eingegangen werden.

b) Änderung der relativen Anteile der Abbauprodukte in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit des Fermentsystems. Läßt man das Enzymsystem 2, 4, 8, 12 und 24 Std auf IES einwirken, so kann man bereits nach 2 Std feststellen, daß β-Indolylglykolsäure(?), β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolaldehyd und „W ?" vorhanden sind. Nach 4 Std Einwirkungszeit liegen β-Indolylglykolsäure(?) und β-Indolylglyoxylsäure in höchster Menge vor und sind nach 8 Std Einwirkungsdauer mit der angewendeten Methode nicht mehr nachweisbar. Nach 12 Std ist die zugesetzte IES vollständig oxydiert. Die β-Indolaldehydmenge nimmt mit der Einwirkungsdauer zu. Die Menge von „W ?" steigt nach 12 Std Einwirkungsdauer nur noch sehr wenig an (Tabelle 2). Von der auf S. 559 erwähnten nicht identifizierten Säure war nach 12 Std Einwirkungsdauer genügend vorhanden, um ihr Verhalten mit synthetischer β-Indolcarbonsäure vergleichen zu können: Farbreaktionen, Mischchromatogramme und -pherogramme zeigten Übereinstimmung.

Tabelle 2. *IES und ihre Abbauprodukte*[1] *in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit des Enzymsystems*

Zur Bestimmung der β-Indolcarbonsäure wurden 0,4 cm³ aufgetragen, im übrigen war 0,1 cm³ ausreichend. Die für IES, β-Indolylglykolsäure(?) und „W ?" angegebenen Planimeterwerte sind Schätzwerte („+" = wenig, „++" = deutlich, „+++" = viel) und die übrigen Werte geschätzte Absolutwerte in γ.

Zeit	IES	IGS(?)	IGyS	IA	ICS	„W ?"
0 Stunden (K)	212	nicht meßbar	—	—	—	—
2 Stunden	178	28	6	1	?	+
4 Stunden	100	46	8—10	2	?	+
8 Stunden	15	—	—	3	?	++
12 Stunden	—	—	—	5	1	++
24 Stunden	—	—	—	8—10	2	+++
24 Stunden (K)	208	nicht meßbar	—	—	—	—

c) Prüfung der Substratspezifität des Enzymsystems. WAGENKNECHT und BURRIS (1950) stellten bei der Prüfung der Substratspezifität des

[1] IES (β-Indolylessigsäure) und β-Indolylglykolsäure(?) (IGS(?)) konnten auf Grund ihrer Rotfärbung mit GORDON-WEBERS-Reagens in Planimetereinheiten gemessen werden. „W ?" wurde ebenfalls mit diesem Reagens sichtbar gemacht und die „W ?"-Zonen aus Extrakten steigender Einwirkungsdauer des Fermentsystems auf IES miteinander verglichen. β-Indolaldehyd (IA) wurde durch den Vergleich mit Streifen, auf denen steigende Mengen (1—10γ) des synthetischen Präparates der Papierelektrophorese unterworfen worden waren, auf Grund der Zonenbreite und der Farbintensität geschätzt; ebenso β-Indolylglyoxylsäure (IGyS), bei der die Abtrennung jedoch durch Papierchromatographie erfolgte (Reagens: VAN ECKS-Reagens). Auf dieselbe Weise wurde die Menge der β-Indolcarbonsäure (ICS) geschätzt (EHRLICHS-Reagens).

Enzymsystems aus etiolierten Erbsensämlingen im Gegensatz zu TANG und BONNER 1947 fest, daß ihr Enzympräparat auch die Fähigkeit hatte, β-Indolylpropionsäure und β-Indolylbuttersäure anzugreifen. Zur Untersuchung der Substratspezifität des Weißkohlenzymsystems wurden folgende Indolderivate verwendet: β-Indolcarbonsäure, β-Indolaldehyd, β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolylacetonitril, β-Indolylpropionsäure und Tryptophan. Die Konzentration der Indolderivate war in jedem Falle 10^{-3} g/cm³. Die Einwirkungsdauer des Enzymsystems betrug 24 Std. Die Abbauprodukte sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Der Vollständigkeit halber sind auch die nichtidentifizierten Abbauprodukte, obwohl sie nur in sehr geringen Mengen nachweisbar sind, in die Tabelle aufgenommen. Sie sind mit ihrem R_f-Wert bezeichnet.

Tabelle 3. *Prüfung der Substratspezifität des Weißkohlenzyms*
Einwirkungszeit: 24 Std. 0,1—3, 0 = 0,1 cm³ chromatographierten Extraktes enthält 3 γ Substanz (T = Tryptophan, IAN = β-Indolylacetonitril, IPS = β-Indolylpropionsäure).

Abbauprodukte	Geprüfte Indolderivate					
	ICS	IA	IGyS	IAN	IPS	T
IA	—	—	0,1—3,0	0,1—3,0	0,1—3,0	0,1—1,0
ICS	—	0,1—8,0	0,3—2,0[1]	0,4—1,0[1]	—	—
„W ?"	?	0,1—++	0,1—++	0,1—+	—	—
Färbung mit GORDON-WEBERS-Reagens						
Rf-Wert						
0,81	grau	—	—	—	—	—
0,83	—	—	—	—	—	rotbraun
0,90	—	—	—	—	rot-violett	—
0,99	—	—	—	—	rot	—
Färbung mit EHRLICHS-Reagens						
0,52	—	—	—	—	gelbbraun	—
0,80	—	—	—	orange	—	—
0,82	—	—	—	—	blaugrau	—

Die Ergebnisse zeigten, daß das Präparat nicht spezifisch auf IES wirkt. Bei allen geprüften Indolderivaten mit 2 bis 3 C-Atomen in der Seitenkette konnte die Bildung von β-Indolaldehyd nachgewiesen werden; die geschätzte Menge zeigte aber deutlich, daß Indolderivate mit 3 C-Atomen in der Seitenkette schwächer angegriffen werden als solche mit 2 C-Atomen in der Seitenkette (vgl. WAGENKNECHT und BURRIS 1950). Alle verwendeten Indolderivate mit 2 C-Atomen in der Seitenkette liefern außer β-Indolaldehyd auch β-Indolcarbonsäure und „W ?" in nachweisbarer Menge. Also werden β-Indolylglyoxylsäure und

[1] Um die aus β-Indolylglyoxylsäure und β-Indolylacetonitril entstandene β-Indolcarbonsäure zu schätzen, reicht die normalerweise genügende Extraktmenge von 0,1 cm³ nicht aus. Es wurden deshalb 0,3 bzw. 0,4 cm³ chromatographiert.

β-Indolaldehyd zur β-Indolcarbonsäure oxydiert. Da aber β-Indolylglyoxylsäure und β-Indolaldehyd beim enzymatischen Abbau der IES als Intermediärprodukte nachgewiesen werden konnten, bestätigt die Entstehung der β-Indolcarbonsäure aus β-Indolylglyoxylsäure und aus β-Indolaldehyd unter der Einwirkung des Enzymsystems indirekt nochmals die Möglichkeit des enzymatischen Abbau der IES bis zur β-Indolcarbonsäure.

d) Nachweis des Indolaldehyds als Intermediärprodukt der enzymatischen Zersetzung der IES. In einer kürzlich erschienenen Arbeit gehen MANNING und GALSTON (1955) auf die Endprodukte des enzymatischen Abbaues der IES durch das Erbsenenzym ein. Auf Grund papierchromatographischer Untersuchungen und Vergleiche verschiedener Farbreaktionen schließen sie, daß der β-Indolaldehyd weder als das End- noch als ein Intermediärprodukt der Reaktion anzusehen sei.

α) Farbreaktionen der chromatographierten Substanzen. Nach 24 Std Einwirkungsdauer des Weißkohlenzymsystems auf IES sind die in der Tabelle 4 genannten Produkte nachweisbar.

Tabelle 4. *Zersetzungsprodukte der enzymatisch abgebauten IES nach 24 Std Einwirkungsdauer des Enzymsystems* (0,1 cm³ aufgetragener Extrakt; Einwirkungstemperatur des Reagens in Celsius-Graden). Streifen vor dem Entwickeln ohne Eigenfarbe. (Bezeichnungen der Indolderivate s. Tabelle 2 und 3)

Rf-Wert	Papierelektrophoretisches Verhalten	Färbung erscheint	Einwirkungstemperatur des Reagens	Farbe mit GORDON-WEBERS-Reagens	Farbe mit ERHLICHS-Reagens	Farbe mit VAN ECKS-Reagens	Bezeichnung der Substanz
0,26	+2,6	nach 30′	50°	ziegelrot	rot-violett	—	ICS
0,85	—5,4	nach 60′	20°	—	blau	—	„q“
0,85	—5,4	nach 5′	50°	—	blaugrün	—	„q“
0,88		nach 30′	50°	hellbraun			„o“ + IA
0,88		sofort	20°		gelb		„o“ + IA
0,88		nach 5′	20°		orange		„o“ + IA
0,88		nach 15′	20°		hellbraun		„o“ + IA
0,88		sofort	20°			gelb	„o“ + IA
	±0	sofort	20°		gelb		„o“
	±0	sofort	20°			gelb	„o“
	—2,7	nach 30′	50°	hellbraun			IA
	—2,7	nach 2h	20°		hellbraun		IA
	—2,7	sofort	20°			gelb	IA
0,93		nach 30′	50°	rot	rotbraun		„W ?“
0,93		nach 20′	20°		rotbraun		„W ?“
	±0	nach 30′	50°	rot			„W ?“
	±0	nach 20′	20°		rotbraun		„W ?“

Der Nachweis der β-Indolcarbonsäure bereitete weder im Mischchromatogramm noch im -pherogramm Schwierigkeiten. Zone „q“

(R_f-Wert 0,85) konnte nicht identifiziert werden. Die Zone mit dem R_f-Wert 0,88 ergab sowohl mit GORDON-WEBERs- als auch mit EHRLICHs- und VAN ECKs-Reagens Farbreaktionen. Ihr Verhalten ist in Tabelle 4 genauer beschrieben. Es läßt einerseits auf das Vorhandensein eines Indol Spaltproduktes schließen (sofortige Gelbfärbung mit EHRLICHs-Reagens; vgl. MANNING und GALSTON 1955), andererseits läßt die hellbraune Farbe der Zone mit GORDON-WEBERs-Reagens eine Substanz mit intaktem Indolkern vermuten. Die Zone ist also offenbar aus zwei verschiedenen Substanzen zusammengesetzt. Die Reaktion mit VAN ECKs-Reagens berechtigt, für eines oder für beide Produkte eine Carbonylgruppe anzunehmen.

β) Aufgliederung des Extraktes durch Papierelektrophorese. Die papierelektrophoretische Aufgliederung des Extraktes erklärt das oben beschriebene Verhalten. Das Pherogramm ergibt vom Start zur Kathode folgende Zonen: Die Auftragsstelle zeigt bei der Behandlung mit EHRLICHs-Reagens sofort intensive gelbe Farbe, die aber bei Zimmertemperatur nach ungefähr 15 min in rotbraun übergeht. Diese Reaktion konnte folgendermaßen gedeutet werden: An der Startlinie verbleibt das mit einem R_f-Wert von 0,88 chromatographierte Spaltprodukt des Indolkerns, wie die sofort entstehende gelbe Farbe dieser Zone mit EHRLICHs-Reagens anzeigt. Es reagiert außerdem auch auf VAN ECKs-Reagens und muß daher eine Carbonylgruppe besitzen. Der nach 15 min im Pherogramm vorhandene rotbraune Farbton mit EHRLICHs-Reagens kann aber nicht allein von der Substanz mit dem R_f-Wert 0,88 herrühren, da im Chromatogramm dieselbe Menge Extrakt nur eine schwache hellbraune Farbe ergibt. Sie kann nur von „W?" stammen, wie die starke Rotfärbung mit GORDON-WEBERs-Reagens wahrscheinlich macht. Am Start verbleiben demnach zwei Stoffe: ein Spaltprodukt des Indols (R_f-Wert 0,88) mit aromatisch gebundener Aminogruppe (sofortige Gelbfärbung mit EHRLICHs-Reagens) und Carbonylcharakter (sofortige Gelbfärbung mit VAN ECKs-Reagens) und die Substanz „W?", die vermutlich einen intakten Indolkern besitzt (R_f-Wert 0,93; rotbraune Färbung mit EHRLICHs-Reagens, Rotfärbung mit GORDON-WEBERs-Reagens).

Die nächste für drei Farbreaktionen positive Zone wandert in 30 min 2,7 cm zur Kathode. Sie ergibt mit VAN ECKs-Reagens sofortige Gelbfärbung und schwache Reaktion mit GORDON-WEBERs-Reagens (hellbraun). EHRLICHs-Reagens bewirkt bei Zimmertemperatur erst nach zwei Std eine schwache Färbung (hellbraun). Da im Chromatogramm nur eine Zone (R_f-Wert: 0.88) mit VAN ECKs-Reagens einen Farbstoff bildet, müssen an dieser Stelle zwei Substanzen vorhanden sein, welche beide Carbonylcharakter haben. Einer dieser Stoffe ist papierelektrophoretisch neutral. Das papierchromatographische und das

papierelektrophoretische Verhalten und die Farbreaktionen des anderen Produktes stimmen im Mischchromatogramm und -pherogramm mit synthetischem β-Indolaldehyd überein.

Ein weiteres Abbauprodukt („p"), das im Chromatogramm nicht aufgefunden wurde, wandert 4,0 cm zur Kathode. Vermutlich handelt es sich ebenfalls um ein Indolspaltprodukt, da die Zone mit Ehrlichs-Reagens nach einiger Zeit Gelbfärbung ergibt (vgl. Manning und Galston 1955) und nicht mit Perchlorsäure und $FeCl_3$ reagiert. Auch die Einwirkung von van Ecks-Reagens blieb negativ.

Am weitesten wandert der Stoff vom R_f-Wert 0,85 zur Kathode (—5,4 cm/30 min).

Nach 24 Std Einwirkungsdauer sind also mindestens 6 Abbauprodukte vorhanden: β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure, „W?", „o", „p" und „q".

γ) Umwandlung enzymatisch dargestellten β-Indolaldehyds in β-Indolcarbonsäure und den unbekannten Stoff „W?". Als weiterer Beweis für das Auftreten des β-Indolaldehyds als Intermediärprodukt des enzymatischen Abbaues der IES durch Weißkohlenzym kann folgende Tatsache gewertet werden: β-Indolaldehyd, der durch den enzymatischen Abbau der IES entstanden war, ergab ebenso wie synthetischer β-Indolaldehyd nach Einwirkung des Weißkohlenzyms β-Indolcarbonsäure und Zone „W?".

Zu diesem Zweck wurden 5 cm³ IES-Lösung (10^{-3} g/cm³) 24 Std in einem 1 Liter-Erlenmeyer-Kolben mit 100 cm³ des Enzympräparates zusammengebracht, gelegentlich geschüttelt und schließlich extrahiert. Der gebildete β-Indolaldehyd wurde chromatographisch-präparativ von den übrigen Substanzen abgetrennt und mit heißem Äthanol aus den Bogen eluiert. Das Eluat wurde nach einer elektrophoretischen Reinigung auf ungefähr 1 cm³ eingedampft und mit 20 cm³ Enzym versetzt. Nach 24 Std Einwirkungsdauer konnten β-Indolcarbonsäure und „W?" papierchromatographisch und papierelektrophoretisch nachgewiesen werden.

β-Indolaldehyd stellt also nicht das Endprodukt der enzymatischen Zersetzung der IES durch das Enzympräparat aus Weißkohl dar, sondern tritt als Intermediärprodukt auf.

e) Über die Wirkung von ungefiltertem UV auf das Enzymsystem, geprüft an der Inaktivierung der IES. Um zu klären, ob UV-Licht die in den Auxinstoffwechsel eingreifenden Enzyme in vitro beeinflußt, wurde das IES-Oxydase-System aus Weißkohl 2 Std in Quarzreagensgläsern (20 cm³) mit ungefiltertem UV-Licht bestrahlt (Quarz-Analysenlampe der Quarzlampengesellschaft Hanau, Brenner S 500). Anschließend wurde das Enzympräparat mit 1 cm³ IES-Lösung (10^{-3} g/cm³) zusammengebracht und bebrütet. Nach 4 Std wurden die Abbauprodukte chromatographisch analysiert. Als Kontrolle diente das bestrahlte Enzympräparat (20 cm³), das mit 1 cm³ Puffer versetzt worden war.

Wie Tabelle 5 zeigt, war die zersetzte IES-Menge kleiner als im Normalversuch. Die Mengen der Zwischenprodukte liegen entsprechend niedriger. Stoff „W ?" ist in 0,1 cm³ aufgetragenem Extrakt nicht nachweisbar. Es taucht jedoch eine neue Zone „S" auf (R_f-Wert: 0,18; Färbung mit GORDON-WEBERS-Reagenz: rotviolett), die nicht identifiziert werden konnte.

UV-Bestrahlung des Weißkohlenzymsystems bewirkt demnach eine Verminderung der Aktivität, die durch eine verringerte Menge zersetzter IES und durch das Auftreten der Zone „S" gekennzeichnet ist.

Tabelle 5. *Vergleich der Abbauprodukte nach Behandlung der IES mit einem bestrahlten und unbestrahlten Enzympräparat nach 4 Std Einwirkungsdauer*

IES, IGS (?) und „S" in Planimetereinheiten (s. I. Mitteilung S. 270), IGyS und IA geschätzt in γ, bei „W ?" bedeutet „+" nachweisbar und „—" nicht nachweisbar (Bezeichnungen der Indolderivate s. Tabelle 2 und 3).

Abbauprodukte	IES	IGS (?)	IGyS	IA	„W ?"	„S"
Enzym unbestrahlt	100	46	8—10	2	+	—
Enzym bestrahlt .	127	20	6	0,5	—	16

3. Diskussion

TANG und BONNER (1947) sowie WAGENKNECHT und BURRIS (1950) haben als Endprodukt der Umwandlung der IES durch Erbsenenzym den β-Indolaldehyd angenommen. In den vorliegenden Untersuchungen konnte der β-Indolaldehyd bei der Einwirkung von Weißkohlenzym auf IES nachgewiesen werden, ein Ergebnis, das mit den Befunden verschiedener Autoren bei der Verwendung anderer IES-Oxydasen übereinstimmt (RACUSEN 1955, SCHNEIDER 1957, SPARMANN 1957). Obwohl bei 24stündiger Einwirkungszeit die gebildete β-Indolaldehydmenge in den letzten 12 Std stark anstieg, erreichte sie doch nie die der zersetzten IES äquivalente Menge. Da auch β-Indolaldehyd bei Behandlung mit Weißkohlenzym zu β-Indolcarbonsäure und anderen unbekannten Produkten abgebaut wird, folgt daraus, daß er nicht das Endprodukt der Reaktion sein kann. Im Gegensatz zu dem Befund von MANNING und GALSTON (1955), nach dem β-Indolaldehyd weder als End- noch als Intermediärprodukt des enzymatischen Abbaues durch Erbsenenzym in Frage kommt, tritt er also zweifellos beim enzymatischen IES-Abbau durch Weißkohlenzym als Intermediärprodukt auf. Interessanterweise ergab auch die Einwirkung des Erbsenenzyms und des Saftes aus Bohnenwurzeln auf IES in meinen Versuchen deutlich die β-Indolylglykolsäure- und β-Indolaldehyd-Zone. β-Indolylglykolsäure(?) ist jedoch nur dann nachweisbar, wenn das Enzym-Substratverhältnis so eingestellt wird, daß bei Versuchsunterbrechung nur ein Teil (höchstens 100 Planimetereinheiten) der IES-Ausgangsmenge zerstört ist (vgl. Tabelle 2).

Im Hinblick auf das natürliche Vorkommen des β-Indolaldehyds im Weißkohl (v. DENFFER, BEHRENS und FISCHER 1952, JONES und TAYLOR 1957) erscheint der Nachweis des β-Indolaldehyds als Intermediärprodukt des enzymatischen Abbaues der IES durch Weißkohlenzym in vitro von besonderer Bedeutung. *Es legt den Schluß nahe, daß der Abbau der IES im Weißkohl in vivo ebenfalls über den β-Indolaldehyd führt.*

Der Nachweis der β-Indolylglykolsäure(?), β-Indolylglyoxylsäure und des β-Indolaldehyds bei der Einwirkung von Weißkohlenzym auf IES sowie die Bildung von β-Indolaldehyd bei der Behandlung von β-Indolylglyoxylsäure mit Weißkohlenzym bestätigt den von GOLDACRE (1951) angenommenen Abbauweg der IES über diese Indolderivate in vitro.

Nach WAGENKNECHT und BURRIS (1950) ist Erbsenenzym nicht IES-spezifisch. Dasselbe gilt auch für das Weißkohlenzymsystem. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang die enzymatische Umwandlung des β-Indolylacetonitrils. Sie führte nicht zur Bildung nachweisbarer Mengen IES, wie es bei der enzymatischen Umwandlung mit Haferkoleoptilen der Fall ist (STOVE und THIMANN 1954), sondern die ersten nachweisbaren Stoffe waren sogleich β-Indolaldehyd, β-Indolcarbonsäure und „W ?". Das Nitril unterliegt demnach einer α-Oxydation zur β-Indolcarbonsäure, wie es bereits FAWCETT, SEELEY, TAYLOR, WAIN und WIGHTMAN 1955 feststellen konnten. Auch das Fehlen des entsprechenden Amids als Intermediärprodukt stimmt mit dem Ergebnis der genannten Autoren überein, während der β-Indolaldehyd als Zwischenprodukt der enzymatischen Zersetzung des β-Indolylacetonitrils mit Weißkohlenzym meines Wissens hier zum erstenmal nachgewiesen werden konnte. Vergleicht man die Abbauprodukte aller geprüften Indolderivate, so scheint die Folgerung berechtigt, daß bei dem enzymatischen Abbau der Indolderivate durch das Weißkohlenzymsystem der Weg über den β-Indolaldehyd bevorzugt wird, wie das auch schon auf Grund des natürlichen Vorkommens des β-Indolaldehyds in Weißkohl zu erwarten war.

MEYER und POHL (1956) haben mitgeteilt, daß β-Indolaldehyd durch Koleoptilgewebe (Schardinger-Enzym) zu β-Indolcarbonsäure oxydiert wird. Ein entsprechend wirkendes Enzym findet sich, wie die vorliegende Untersuchung gezeigt hat, auch im Weißkohl. Es ist in der Lage, β-Indolaldehyd in vitro zu β-Indolcarbonsäure und der unbekannten Substanz „W ?" abzubauen. Demgegenüber scheint nach MANNING und GALSTON (1955) durch Erbsenenzym keine Zersetzung des β-Indolaldehyds einzutreten.

Versuche mit 2 Std bestrahltem Weißkohl-Enzym machen für „W ?" eine Vorstufe „S" wahrscheinlich. Ihre Entstehung könnte folgendermaßen erklärt werden: Der die Umwandlung von „S" in „W ?" bewirkende Teil des Enzymsystems ist

durch zweistündige UV-Wirkung blockiert. Die Reaktion „S"→„W ?", die beim intakten Enzymsystem so schnell verläuft, daß „S" nicht nachgewiesen werden kann, läuft nicht mehr ab und „S" sammelt sich an. Es dürfte also vor „W ?" einzuordnen sein, wenn seine Entstehung auf der Blockierung des „W ?" bildenden Enzymteils beruht. Andererseits muß es ein Abbauprodukt des β-Indolaldehyds sein, da „W ?" aus β-Indolaldehyd entsteht und in den Versuchen mit bestrahltem Enzym der β-Indolaldehyd nachgewiesen werden konnte, während gleichzeitig „W ?" fehlte. Diese Erklärungsmöglichkeit für das Auftreten eines neuen Abbauproduktes nach der UV-Bestrahlung des Enzymsystems findet eine Parallele in Untersuchungsergebnissen von Weber und Gordon (1953). Sie berichten, daß durch den Einfluß ionisierender Strahlen bei einem Enzymsystem aus Bohnensämlingen derjenige Enzymteil blockiert wird, der den β-Indolylacetaldehyd zur IES umwandelt. Die Menge der neutralen Komponente mit Aldehydeigenschaften steigt demzufolge an. Enzympräparate aus ähnlich bestrahlten Pflanzen zeigten nach Weber und Gordon eine verminderte Fähigkeit, den β-Indolylacetaldehyd umzuwandeln.

Gordon (1953) stellte bei seinen Bestrahlungsversuchen mit Röntgenstrahlen weiterhin fest, daß niedrige Bestrahlungsdosen die Fähigkeit der Pflanzen, Wuchsstoff fermentativ abzubauen, unbeeinflußt lassen. Meine in-vitro-Versuche über die Bestrahlung des Enzyms mit UV haben demgegenüber eine Verringerung der Wirkung des Enzymsystems auf IES ergeben. Damit muß die eingangs gestellte Frage nach der Möglichkeit einer *mittelbaren* Wirkung des UV-Lichtes auf den Wuchsstoffhaushalt durch die Inaktivierung von Enzymen oder Enzymsystemen (s. S. 557) für den Weißkohl (zumindest in vitro) grundsätzlich positiv beantwortet werden.

Manning und Galston (1955) weisen darauf hin, daß der enzymatische Abbau der IES auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen kann: entweder durch Oxydation der Seitenkette oder durch die Ringspaltung des Indolkerns. Ein Abbauprodukt dieser letzten Art („o") erscheint auch beim Abbau der IES durch das Weißkohlenzym. Da „o" mit Gordon-Webers-Reagens nicht reagiert, mit Ehrlichs-Reagens aber sofortige Gelbfärbung ergibt, dürfte es sich dabei um ein Indolspaltprodukt mit einer aromatisch gebundenen Aminogruppe handeln (vgl. Manning und Galston 1955). Der Nachweis einer solchen Substanz („o"), die sich hingegen aus β-Indolaldehyd bei Zersetzung durch Weißkohlenzym nicht zu bilden scheint, stützt die Ansicht Mannings und Galstons (1955) von einem „multiple pathway" des fermentativen IES-Abbaues, der durch eine Oxydation der Seitenkette oder durch eine Ringoxydation erfolgen kann. Die bei der Einwirkung von Erbsenenzym auf IES beobachteten stöchiometrischen Verhältnisse — pro Mol zersetzter IES wird ein Mol Sauerstoff verbraucht und ein Mol Kohlendioxyd frei (Tang und Bonner 1947) — stellen daher nach Manning und Galston (1955) das Gesamtergebnis des Netto-Gasaustausches der auf verschiedenen Abbauwegen verlaufenden Reaktion dar.

II. Vergleich der Indolderivate in unbestrahlten und bestrahlten Weißkohlpflanzen

Schon 1939 und 1940 stellte LINSER bei Kohlarten einen ungewöhnlichen Wuchsstoffreichtum fest. Später wiesen HOLLEY, BOYLE, DURFEE und HOLLEY (1951) auf die mögliche Anwesenheit von IES im Weißkohl hin. 1952 isolierten JONES, HENBEST, SMITH und BENTLEY β-Indolylacetonitril aus Weißkohl. Ihr Befund wurde später mehrfach bestätigt (v. DENFFER, BEHRENS und FISCHER 1952; LINSER, MAYR und MASCHEK 1954; HOUSLEY und BENTLEY 1956), und es fanden sich außerdem noch IES (FISCHER 1954; LINSER, MAYR und MASCHEK 1954; KEFFORD 1955), β-Indolaldehyd[1] (v. DENFFER, BEHRENS und FISCHER 1952) oder Vorstufen des β-Indolylacetonitrils (BONDE 1955, HOUSLEY und BENTLEY 1956). Das Vorkommen gleich dreier bekannter Indolderivate in einer Pflanze in nachweisbarer Menge und ihr Gehalt an IES-Oxydase ließ den Weißkohl als Versuchspflanze besonders geeignet erscheinen.

1. Methode

Anzucht der Versuchspflanzen, auffallende morphologische Veränderungen der bestrahlten Pflanzen und Extraktionsmethode. Die Aussaat erfolgte am 1. 6. 1955. Die Jungpflanzen (Sorte: „Amager") waren im Versuchsgewächshaus des Bot. Gartens am 7. 6. aufgelaufen und wurden am 22. 6. in Töpfe pikiert. Vom 27. 6. bis 30. 6. wurden sie täglich vormittags je 1 min aus 1 Meter Entfernung bestrahlt (Brenner S 700 der Quarzlampengesellschaft Hanau). Vom 1. 7. bis 4. 10. 55 wurde die Bestrahlungszeit auf zweimal 1 min (10 Uhr und 17 Uhr) erhöht. Schon nach ungefähr 10 Tagen Bestrahlungsdauer zeigten sich die ersten morphologischen Veränderungen, die darin bestanden, daß die Blattränder anfingen, sich nach oben zu rollen. Ende Juli waren die UV-behandelten Pflanzen gegenüber den Kontrollen in ihrer Größe schon deutlich zurückgeblieben. Der Unterschied betrug am Ende der Bestrahlungszeit etwa 5 cm. Die mittlere Höhe der Kontrollen vom Wurzelhals bis zur Sproßspitze betrug 33 cm (Mittelwert von 13 Pflanzen).

Zum qualitativen Nachweis der verschiedenen Indolderivate unbehandelter Pflanzen (etwa 6 Monate alt, im Freiland gezogen) wurden die inneren etiolierten Blätter zerkleinert und je Gramm mit dem 1,5 cm³ Volumen peroxydfreiem Äther 20 Std bei Zimmertemperatur extrahiert (VAN OVERBEEK, VASQUEZ und GORDON 1947). Der Ätherextrakt wurde auf 150 cm³ eingeengt und nach GORDON und SANCHEZ-NIEVA (1949) in eine neutrale und saure Phase fraktioniert. Beide Ätherphasen wurden getrennt im Vakuum zur Trockne eingedampft und dreimal mit je 1,0 cm³ Äthanol aufgenommen.

Zur Untersuchung der Indolderivate in bestrahltem und unbestrahltem Weißkohl wurden die Sproßspitzen und die jüngsten Blätter von 8 bis 10 Pflanzen als Ausgangsmaterial benutzt. Wegen dieser geringen Menge wurde folgendes Extraktionsverfahren angewendet: Die Blätter wurden im Mörser mit Quarzsand zerrieben und in einem Leinentuch ausgepreßt. Der Preßsaft wurde zentrifugiert und nach der von SPARMANN und SCHNEIDER (1955) angegebenen Methode unter Stickstoff ultrafiltriert (Filter: Ultrafeinfilter „fein" der Membranfilter-Gesellschaft Göttingen). Vom wasserklaren Filtrat wurden 25 cm³ mit der doppelten Menge

[1] JONES und TAYLOR (1957) gelang es, diesen und β-Indolcarbonsäure zu isolieren.

peroxydfreiem Äther dreimal je 15 min ohne Trennung in eine neutrale und saure Phase extrahiert, im Vakuum zur Trockne eingedampft und der Ätherrückstand 2 × in je 0,5 cm³ Äthanol aufgenommen. Die Identifizierung der Indolderivate erfolgte durch Mischchromatogramme oder Elektropherogramme (s. I. Mitteilung S. 264—265).

2. Versuche

a) Indolderivate des Weißkohls. *α) Indolderivate der neutralen Ätherfraktion.* Die Untersuchung ergab die Anwesenheit von β-Indolylacetonitril und β-Indolaldehyd in der neutralen Ätherphase und bestätigt damit die Ergebnisse früherer Autoren (vgl. S. 568). Der Nachweis des β-Indolylacetonitrils erfolgte durch Mischchromatogramme und -pherogramme und durch die Farbreaktion mit GORDON-WEBERS-Reagens, EHRLICHS-Reagens sowie Natriumnitrit und Salzsäuredämpfe (β-Indolaldehydnachweis s. I. Mitteilung, Tabelle 2).

Außer diesen identifizierten Substanzen fand FISCHER (1954) eine weitere Zone „K", die mit Nitrit und Salzsäure schon in der Kälte eine deutliche Rotfärbung zeigte, einen höheren R_f-Wert als β-Indolylacetonitril besaß und bei 220 V im elektrischen Feld wenig zur Anode wanderte. Im Avena-Test zeigte die Substanz keine Wuchsstoffwirkung (R_f-Wert 0,93).

Eine Identität zwischen „K" einerseits und den Abbauprodukten „W" (I. Mitteilung, S. 295 und 297) und „W ?" (S. 559) andererseits lag nahe, konnte jedoch auf Grund der abweichenden Färbung mit GORDON-WEBERS-Reagens ausgeschlossen werden.

β) Indolderivate der sauren Ätherfraktion. Während die Gegenwart freien β-Indolylacetonitrils im Weißkohl von verschiedenen Seiten bestätigt wurde, ist der Nachweis freier IES umstritten (vgl. KEFFORD 1955 und HOUSLEY und BENTLEY 1956). Eine Entscheidung über diese Frage konnte auch im Verlaufe der vorliegenden Untersuchung nicht gefällt werden, da mit der angewendeten Extraktionsmethode (s. S. 568) nur die Gesamt-IES (freie + gebundene IES) erfaßt werden konnte. Für diese fiel der Nachweis (I. Mitteilung, Tabelle 2) jedoch eindeutig positiv aus. Weiterhin enthielt die saure Ätherphase auch β-Indolylacetonitril (vgl. HOUSLEY und BENTLEY 1956).

Neben diesen Indolderivaten der sauren Ätherphase fielen zwei andere schwache rote Zonen im Chromatogramm auf. Davon hatte eine hellrote den R_f-Wert 0,26, während eine tiefrote Zone höher als IES wanderte: R_f-Wert 0,53. Neben der Extrahierbarkeit im sauren Bereich deutete auch das papierelektrophoretische Verhalten beider Substanzen auf Säuren hin. Beide wandern jedoch weniger weit zur Anode als IES, und zwar die Säure mit dem R_f-Wert 0,53 weiter als die mit dem R_f-Wert 0,26.

Zur Anreicherung und Identifizierung der Säuren wurde der saure Extrakt zunächst auf 9 Bogen (29 × 28 cm², 0,05 cm³ Extrakt/4 cm Bogenbreite) chromatographiert. Beide Ränder der Bogen (1 cm breit) und ein Mittelstreifen (0,5 cm breit)

wurden mit GORDON-WEBERS-Reagens behandelt und so der Sitz der Säuren bestimmt, sodann die Zonen ausgeschnitten und die ungefähr 2 cm breiten Abschnitte dreimal mit je 70 cm³ warmem Äthanol eluiert. Die filtrierten Eluate wurden unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft und der Rückstand dreimal in je 1 cm³ Äthanol gelöst. Da sich bei der papierchromatographischen Reinheitsprüfung noch Verunreinigungen ergaben, wurde noch eine papierelektrophoretische Reinigung angeschlossen (Laufzeit 30 min). Dabei bleibt auf der Auftragsstelle ein gelbbrauner Rückstand. Die wiederum eingedampften Eluate wurden zweimal in je 1 cm³ Äthanol aufgenommen.

Im Mischchromatogramm (0,08 cm³ Extrakt) und Mischpherogramm (0,06 cm³ Extrakt) wurden die Extrakte mit synthetischer β-Indolylpropionsäure[1] und β-Indolcarbonsäure verglichen. Dabei zeigte die β-Indolcarbonsäure Übereinstimmung mit dem sich hellrot färbenden Indolderivat (R_f-Wert: 0,26), und die β-Indolpropionsäure verhielt sich ebenso wie das tiefrot gefärbte Indolderivat (R_f-Wert: 0,53). Neben den R_f-Werten beider Stoffe sowie den Mischchromatogrammen und -pherogrammen entsprechen auch die Färbungen mit GORDON-WEBERS-Reagens und EHRLICHS-Reagens denen der synthetischen Präparate. *Daher darf das Vorkommen der β-Indolpropionsäure und der β-Indolcarbonsäure*[2] *im Weißkohl mit großer Sicherheit angenommen werden.*

b) Vergleich der Indolderivate in bestrahlten und Normalpflanzen. Zur Prüfung, wie weit sich die in vitro-Ergebnisse der Versuche über die photolytische und enzymatische Zersetzung der Indolderivate auf die Verhältnisse in den Pflanzen übertragen lassen, wurde abschließend der Gehalt der Indolderivate in UV-bestrahlten und unbestrahlten Pflanzen verglichen. Bei diesen Versuchen ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Zahl der extrahierten Pflanzen relativ gering war. Weiterhin datieren die Ergebnisse aus nur einer Vegetationsperiode.

Die Pflanzen wurden in zwei verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht: 1. als zwei Monate alte Jungpflanzen, 2. nach einer Wachstumszeit von vier Monaten im Stadium der Rosettenbildung. Die Extraktionen der zwei Monate alten Pflanzen wurden zwischen dem 31. Juli und dem 5. August 1955 durchgeführt. Bei der benutzten Extraktmenge von 0,05 cm³ konnte nur der Gehalt an β-Indolylacetonitril, β-Indolaldehyd und „K" untersucht werden. Wie Tabelle 6 zeigt, war in den UV-bestrahlten Pflanzen nach zwei Monaten eine merkliche Verringerung des β-Indolylacetonitril-Gehaltes festzustellen, während der Gehalt an

[1] Es sei hier erwähnt, daß bei Vergärung von Tryptophan durch Hefe nach der Methode von EHRLICH 1912 neben nicht identifizierten Indolderivaten im sauren Ätherextrakt der Kulturflüssigkeit ebenfalls β-Indolylpropionsäure nachgewiesen werden konnte. Der Nachweis erfolgte durch Mischchromatogramme, -pherogramme und den Vergleich der UV-Absorptionsspektren mit synthetischer β-Indolylpropionsäure.

[2] Inzwischen wurde β-Indolcarbonsäure durch JONES und TAYLOR 1957 aus Weißkohl isoliert.

„K" anstieg. Die β-Indolaldehyd-Zonen ergaben mit VAN ECKS-Reagens nur schwache gerade eben sichtbare Gelbfärbungen, bei denen quantitative Unterschiede nicht zu erfassen waren.

Die zweite Extraktion wurde vom 2. bis 4. Oktober 1955 durchgeführt. Neben β-Indolylacetonitril, β-Indolaldehyd und „K" konnte zu dieser Zeit auch der Gehalt an β-Indolylpropionsäure, β-Indolcarbonsäure und IES untersucht werden, wenn 0,05 cm³ Extrakt analysiert wurden. Nach einer Versuchsdauer von vier Monaten ergaben sich zwischen bestrahlten Pflanzen und Kontrollen keine auffälligen Unterschiede im β-Indolylacetonitril-Gehalt. Beim Ausplanimetrieren der β-Indolylacetonitril-Zone ließ sich zwar noch eine geringe Verminderung des β-Indolylacetonitril-Gehaltes der UV-bestrahlten Pflanzen gegenüber den Kontrollen feststellen, der Unterschied war jedoch so gering (56 gegenüber 58 Planimetereinheiten), daß er nicht als gesichert gelten kann[1]. Auch der Gehalt der Versuchspflanzen an IES und β-Indolylpropionsäure ergab gegenüber den Kontrollen keine merklichen Unterschiede. *Die Menge an „K" und β-Indolcarbonsäure dagegen lag in den bestrahlten Pflanzen eindeutig höher, während der β-Indolaldehyd-Gehalt gegenüber den Kontrollen deutlich reduziert war.*

Tabelle 6. *Vergleich der Indolderivate in bestrahltem und unbestrahltem Weißkohl*

Substanzen	Nach 2 Monaten		Nach 4 Monaten	
	UV	Kontrolle	UV	Kontrolle
„K"	++	+	+++	++
IAN	+	++	+++	++++
IA	+	+	++	+++
IPS	–	–	+	+
IES	–	–	+	+
ICS	–	–	++	+

(Zeichenerklärung s. Tabelle 2; „++++", bezogen auf den Gehalt an β-Indolylacetonitril 4 Monate alter Pflanzen konnte nicht gesichert werden; s. auch Text; Bezeichnungen s. Tabelle 2 und 3).

C. Diskussion

Neben β-Indolylacetonitril, IES und β-Indolaldehyd konnten *β-Indolylpropionsäure* und *β-Indolcarbonsäure* als weitere natürliche Indolderivate im Weißkohl nachgewiesen werden. Im Sprossenkohl konnten LINSER, MAYR und MASCHEK bereits 1954 das Auftreten der β-Indolylpropionsäure wahrscheinlich machen, während die β-Indolcarbonsäure erstmalig von CARTWRIGHT (s. FAWCETT und Mitarb. 1955) in jungen Erbsen festgestellt werden konnte. Mir gelang es im Herbst 1954, diese Säure auch im Weißkohl nachzuweisen. Dieser Befund hat inzwischen durch die Isolierung der Säure durch JONES

[1] Da sich die IAN-Eichkurve asymptotisch einem Grenzwert nähern dürfte, kann eine Differenz von zwei Planimetereinheiten bei hohen x-Werten durchaus auf eine große Differenz der IAN-Konzentration zurückgehen.

und TAYLOR (1957) seine Bestätigung erfahren. Gerade der Nachweis dieser Säure ist aber besonders wichtig. Einerseits konnte nämlich in den in vitro-Versuchen gezeigt werden, daß der β-Indolaldehyd zur β-Indolcarbonsäure abgebaut wird. β-Indolaldehyd entsteht aber auch durch enzymatische Umwandlung von β-Indolylpropionsäure und β-Indolylacetonitril in vitro. Weiterhin wird auch die IES fermentativ in vitro zur β-Indolcarbonsäure oxydiert. Wenn sich andererseits alle diese Verbindungen tatsächlich in der Pflanze nachweisen lassen, *dann wird man auch in vivo den Abbauweg der β-Indolylpropionsäure, der IES und des β-Indolylacetonitrils über β-Indolaldehyd und weiter über β-Indolcarbonsäure annehmen dürfen.* Daß aber β-Indolylpropionsäure und β-Indolylacetonitril die Vorstufe der IES im Weißkohl darstellen (vgl. auch GORDON 1955), ist nach den in Tabelle 4 mitgeteilten Ergebnissen unwahrscheinlich.

Ein Vergleich des Indolderivatgehaltes verschieden alter unbestrahlter Weißkohlpflanzen zeigt, daß der relative Gehalt des Weißkohls an β-Indolylacetonitril und „K" im Zeitraum der vegetativen Entwicklung zunimmt, ein Befund, den auch schon FISCHER 1954 mitgeteilt hat. Darüber hinaus ergab sich, daß in der geprüften Periode der relative Gehalt an β-Indolaldehyd, β-Indolylpropionsäure, IES und β-Indolcarbonsäure zunimmt.

Verschiedene Autoren weisen darauf hin, daß UV-Licht die Auxinausbeute vermindert (BURKHOLDER und JOHNSTON 1937; POPP und MCILVAINE 1937; MCILVAINE und POPP 1940; PILET 1951; v. DENFFER und SCHLITT 1951). Beim Weißkohl kann dieses Ergebnis für die natürlichen Wuchsstoffe vom Indoltypus nur bedingt bestätigt werden: Lediglich in zwei Monate alten Pflanzen war eine Verminderung des Gehaltes an β-Indolylacetonitril gegenüber der unbestrahlten Kontrolle zu beobachten. Bei vier Monate alten Pflanzen ist möglicherweise auch noch ein Unterschied vorhanden; er ließ sich jedoch mit der angewendeten Methode nicht mehr eindeutig sichern. Der IES- und β-Indolylpropionsäuregehalt bestrahlter vier Monate alter Pflanzen, wies keinen merklichen Unterschied gegenüber den unbestrahlten Kontrollen auf; demgegenüber war ihr Gehalt an β-Indolaldehyd deutlich vermindert. Der Gehalt bestrahlter vier Monate alter Pflanzen an β-Indolcarbonsäure war nach UV-Bestrahlung merklich erhöht.

Wo können die Gründe für diese unterschiedliche Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Indolderivate des Weißkohls liegen? Bereits eingangs wurde darauf hingewiesen, daß die Wirkung des Lichtes in einer direkten Photolyse der Indolderivate bestehen kann. Die IES-Bestrahlungsversuche von MAYR (1956) sowie auch die eigenen Untersuchungen, bei denen der Einfluß von organischen Beigaben auf die IES-Bildung aus Tryptophan geprüft wurde (I. Mitteilung S. 281—283),

festigen die Ansicht, „daß die Schutzwirkung des heterogenen Milieus von UV-absorbierenden Chromophoren in Pflanzengeweben" (GORDON 1954) eine maßgebliche Rolle spielt (vgl. auch GORDON und WEBER 1955). Nach diesen Erfahrungen ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß die direkte Inaktivierung von Wuchsstoffen in der Zelle bei relativ geringer UV-Dosierung von größerer Bedeutung ist. So sagt GORDON schon 1954: „it seems more likely that the lowered auxin level found following ultraviolet irradiation is caused by altered rates of auxin metabolism". WEBER und GORDON (1953) gelang es zu zeigen, daß eine verminderte Auxin-Ausbeute nach geringer Röntgenbestrahlung auf die Blockierung des die IES-Vorstufe in IES umwandelnden Enzymteiles zurückzuführen ist. Die Möglichkeit eines Angriffs des UV-Lichtes über die in den Auxinstoffwechsel eingreifenden Enzyme konnte in der hier vorliegenden Untersuchung am Beispiel der IES-Oxydase aus Weißkohl in vitro grundsätzlich bestätigt werden, da die Aktivität des Enzymsystems nach UV-Bestrahlung merklich herabgesetzt ist. Auch die Zunahme von „K" und der β-Indolcarbonsäure im Verlaufe der Bestrahlung von Weißkohlpflanzen spricht für die Möglichkeit einer mittelbaren Einwirkung des UV-Lichtes. Während Röntgenstrahlen in niedrigen Dosen die „Inaktivierungsmechanismen des Auxins" unbeeinflußt lassen (GORDON 1953), wurde die Aktivität der IES-Oxydase aus Weißkohl durch eine zweistündige UV-Bestrahlung in vitro deutlich herabgesetzt. Diese Wirkung dürfte jedoch auf die hohe UV-Dosis zurückzuführen sein. Ein Vergleich mit GORDONs Ergebnissen wäre aber auch bei einer niedrigeren UV-Dosis nicht zulässig, da er Enzyme bestrahlter Pflanzen benutzte, während im vorliegenden Fall das Enzympräparat selbst bestrahlt wurde.

Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit erstreckten sich über den Zeitraum von Anfang November 1952 bis Ende des Jahres 1955.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. D. v. DENFFER danke ich herzlich für wertvolle Anregungen und Hinweise bei der Durchführung dieser Arbeit.

Weiter gilt mein Dank Herrn Professor Dr. F. KROLLPFEIFFER für die Darstellung und Überlassung zahlreicher im freien Handel nicht erhältlicher Indolderivate, Herrn Professor Dr. M. BEHRENS für viele Hinweise zur Methodik und Herrn Dr. P. BARTELS für die kameradschaftliche Hilfe in allen Fragen der Bestrahlungstechnik und der optischen Messungen (s. I. Mitteilung).

Zusammenfassung

1. Bei der Zerstörung der β-Indolylessigsäure durch die nach der Methode von TANG und BONNER aus Weißkohl dargestellte β-Indolylessigsäure-Oxydase konnten β-Indolylglykolsäure(?), β-Indolylglyoxylsäure, β-Indolaldehyd und β-Indolcarbonsäure als Abbauprodukte identifiziert werden. Das Auftreten von Indolspaltprodukten darf als wahrscheinlich angenommen werden.

2. Das Oxydasesystem wirkt nicht nur auf β-Indolylessigsäure, sondern es greift auch Tryptophan, β-Indolylpropionsäure, β-Indolylacetonitril, β-Indolylglykolsäure (?), β-Indolaldehyd und β-Indolcarbonsäure an. UV-Bestrahlung des Enzymsystems in vitro bewirkt eine Verminderung seiner Aktivität.

3. An weiteren Indolderivaten konnten im Weißkohl β-Indolcarbonsäure und β-Indolylpropionsäure nachgewiesen werden.

4. Die Wirkung des UV-Lichtes auf die natürlichen Indolderivate des Weißkohls ist nicht einheitlich. Beispielsweise wird der β-Indolylacetonitril-Gehalt zwei Monate alter Kohlpflanzen nach Bestrahlung merklich verringert.

5. Umgekehrt erfährt der Gehalt vier Monate alter Pflanzen an β-Indolcarbonsäure durch UV-Bestrahlung eine Erhöhung. Der Gehalt vier Monate alter Pflanzen an β-Indolylpropionsäure und an β-Indolylessigsäure erfährt durch UV-Bestrahlung keine merkliche Veränderung.

Literatur

BONDE, E. K.: Auxins and auxin precursors in acid and non acid fractions of plant extracts. Bot. Gaz. **115**, 1 (1953). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — BURKHOLDER, P. A., and E. S. JOHNSTON: Inactivation of plant growth substance by light. Smithsonian Inst. Misc. Coll. **95**, 1, H. 20 (1937). — DENFFER, D. v., M. BEHRENS u. A. FISCHER: Papierchromatographischer und papierelektrophoretischer Nachweis des β-Indolacetonitrils und des β-Indolaldehyds in Extrakten aus Kohlpflanzen. Naturwiss. **39**, 550 (1952). — DENFFER, D. v., u. L. SCHLITT: Blühförderung durch Ultraviolettbestrahlung. Naturwiss. **38**, 568 (1951). — EHRLICH, F.: Über Tryptophol (β-Indolyl-äthylalkohol), ein neues Gärprodukt der Hefe aus Aminosäuren. Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 883 (1912). — FAWCETT, C. H., R. C. SEELEY, F. TAYLOR, R. L. WAIN and F. WIGHTMAN: α-Oxydation of ω-(2:4-Dichlorophenoxy) alkanenitriles and 3-Indolylacetonitril within Plant Tissues. Nature **176**, 1026 (1955). — FISCHER, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288 (1954). — GOLDACRE, P. L.: Hydrogen peroxyds in the enzymic oxydation of Heteroauxin. Austral. J. Sci. Res., Ser. B **4**, 293 (1951). — GORDON, S. A.: In Growth and differentation in plants, chapt. 13, edit. W. E. LOOMIS. Ames, Iowa: Iowa State College Press 1953. 458 pp. Ref. bei S. A. GORDON 1954. — Occurence, formation and inactivation of auxins. Annual Rev. Plant Physiol. **5**, 365 (1954). — The biogenesis of natural auxins. Chemistry and mode of action of plant growth substances. Proc. of a symp. held at Wye Coll. (Univ. of London) 65, 1955. — GORDON, S. A., and F. SANCHEZ-NIEVA: The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. I. Nature of the active auxin. Arch. of Biochem. **20**, 356 (1949). — GORDON, S. A., and R. P. WEBER: Studies on the mechanism of phytohormone damage by ionizing radiation. I. The radiosensitivity of indole-acetic acid. Plant Physiol. **30**, 200 (1955). — HOLLEY, H. W., F. P. BOYLE, H. K. DURFEE and A. D. HOLLEY: A study of the auxins in cabbage using countercurrent distribution. Arch. of Biochem. a. Biophysics **32**, 192 (1951). — HOUSLEY, S., and J. A. BENTLEY: Studies in plant growth hormones. IV. Chromatography of hormones and hormone precursor in cabbage. J. of Exper. Bot. **7**,

219 (1956). — Jones, E. R., H. B. Henbest, G. F. Smith and J. A. Bentley: 3-indole-aceto-nitril, a naturally occuring plant growth hormone. Nature (Lond.) **169**, 485 (1952). — Jones, E. R. H., and W. C. Taylor: Some indole Constituents of Cabbage. Nature **179**, 1338 (1957). — Kefford, N. P.: The growth substances separated from plant extracts by chromatography. I. J. of Exper. Bot. **6**, 129 (1955). — Linser, H.: Zur Methodik der Wuchsstoffbestimmung. II. Planta (Berl.) **29**, 392 (1939). — Über das Vorkommen von Hemmstoff in Pflanzenextrakten sowie über das Verhältnis von Wuchsstoffabgabe und Wuchsstoffgehalt bei Pflanzen oder Pflanzenextrakten. Planta (Berl.) **31**, 32 (1940). — Linser, H., H. Mayr u. F. Maschek: Papierchromatographie von zellstreckend wirksamen Indolkörpern aus Brassica-Arten. Planta (Berl.) **44**, 103 (1954). — Manning, D. T., and A. W. Galston: On the nature of the enzymatically catalized oxydation products of indole acetic acid. Plant. Physiol. **30**, 225 (1955). — Mayr, H.: Zur Photolyse von Indol-3-Essigsäure bei papierchromatographischen Arbeiten. Planta (Berl.) **46**, 512(1956). — McIlvaine, H. R. C., and H. W. Popp: Further studies on growth substances in relation to the mechanism of the action of radiation on plants. J. Agricult. Res. **60**, 207 (1940). — Melchior, G. H.: Über den Abbau von Indolderivaten. I. Mitteilung. Photolyse durch ultraviolettes Licht. Planta **50**, 262 (1957). — Meyer, J., u. R. Pohl: Neue Erkenntnisse zum Problem der phototropen Krümmung bei höheren Pflanzen. Naturwiss. **43**, 114 (1956). — Overbeek, J. v., E. S. de Vazquez and S. A. Gordon: Free and bound auxin in the vegetative pineapple plant. Amer. J. Bot. **34**, 266 (1947). — Pilet, P. E.: Répartition et variations des auxines dans les racines de Lens culinaris Medikus. Experientia (Basel) **7**, 262 (1951). — Popp, H. T., and H. R. C. McIlvaine: Growth substances in relation to the mechanism of the action of radiation on plants. J. Agricult. Res. **55**, 931 (1937). — Racusen, D.: Formation of indole-3-aldehyde by indole acetic oxydase. Arch. of Biochem. a. Biophysics **58**, 508 (1955). — Schneider, G.: Biochemische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen zur Frage des Schossens und der Blütenbildung der Zuckerrübe. Diss. der Naturwiss. Fakultät der Liebig-Universität, Gießen 1957. — Sparmann, G.: Ein Beitrag zur Biochemie und Physiologie der Blütenbildung der Wintergerste. Diss. der Naturwiss. Fakultät der Liebig-Universität, Gießen 1957. — Sparmann, G., u. G. Schneider: Die Anwendung der Ultrafiltration zur Fraktionierung von Pflanzenpreßsäften und -extrakten. Naturwiss. **42**, 298 (1955). — Stowe, B. B., and K. V. Thimann: The paper chromatography of indole compounds and some indole containing auxins of plant tissues. Arch. of Biochem. a. Biophysics **51**, 499 (1954). — Tang, Y. W., and J. Bonner: The enzymatic inactivation of indole acetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. of Biochem. **13**, 11 (1947). — The enzymatic inactivation of indole acetic acid. II. The physiology of the enzyme. Amer. J. Bot. **35**, 570 (1948). — Wagenknecht, A. C., and R. H. Burris: Indole acetic acid inactivating enzymes from bean roots and pea seedlings. Arch. of Biochem. **25**, 30 (1950). — Weber, R. P., and S. A. Gordon: Abstr. Meeting Amer. Inst. Biol. Sci., Physiol. Sect. (Madison, Wisc.) 1953. Ref. bei S. A. Gordon, 1954, S. 365.

Dr. Georg Heinrich Melchior, (16) Wächtersbach,
Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft,
Institut für Forstgenetik und Pflanzenzüchtung

Planta, Bd. 50, S. 576—578 (1958)

Kurze Mitteilung

Aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

EINFLUSS EINER VORANGEGANGENEN LICHTPERIODE AUF DIE GRÖSSE DER CO_2-AUSSCHEIDUNG GRÜNER (UNREIFER) ÄPFEL IM DUNKELN

Von

JOHANNES WOLF

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 19. Oktober 1957)

Die CO_2-Ausscheidung von Früchten nach dem Abtrennen von der Mutterpflanze wurde aus methodisch bedingten Gründen bisher gewöhnlich in relativ langfristigen, sich über mehrere Stunden ausdehnenden Perioden gemessen. Aus solchen Untersuchungen hatte sich ergeben, daß das Ausmaß der CO_2-Ausscheidung noch unreifer (grüner) fleischiger Früchte nach dem Pflücken zunächst rasch, später langsamer werdend, fortlaufend abfällt. Durch Extrapolieren auf den Zeitpunkt Null (Augenblick des Ablösens der Frucht von der Pflanze) konnte dann erwartet werden, die wahre Größe der Atmung der noch an der Pflanze befindlichen Frucht zu ermitteln.

Wir haben nun durch fortlaufende Messung der CO_2-Ausscheidung mit Hilfe des Ultrarot-Absorptionsschreibers „Uras" bei dem häufig studierten Objekt Apfel gefunden, daß die Größe der CO_2-Ausscheidung des unreifen (grünen) Apfels nach dem Pflücken zunächst nicht abfällt, sondern sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen mehrere Stunden lang kräftig ansteigt (Abb. 1, Kurve *A* und *B*).

Die verwendeten Früchte (Sorte „Goldparmäne") hatten Frischgewichte im Bereich von 40—60 g und waren noch weit vom Eintritt in den klimakterischen Zustand entfernt; sie waren tagsüber bei einer Außentemperatur gepflückt worden, die von der während der Atmungsmessung eingehaltenen Temperatur (20°C) nicht mehr als bis 2°C abwich. Bei diesen in der zweiten Hälfte des Juli 1957 durchgeführten Untersuchungen war der in die Atmungskammer eintretende Luftstrom durch Passieren einer 5n KOH-Lösung (mit Epsilonblau angefärbt nach WINTER) CO_2-frei gemacht und durch Passieren einer gesättigten KCl-Lösung auf eine relative Luftfeuchtigkeit von 88% eingestellt worden; der die Atmungskammer verlassende Gasstrom besaß eine CO_2-Konzentration im Bereich von 0,02—0,04 Vol.-% CO_2.

Es war wenig wahrscheinlich, daß der beobachtete Effekt, den in ähnlicher Weise auch die noch grüne Tomatenfrucht zeigt, eine Reaktion

auf einen mechanischen „Reiz" darstellt, den das Abtrennen der Frucht vom Baum auslöst. Von einer Reaktion auf die Unterbrechung des Stoffaustausches zwischen Frucht und Sproß hätte man erwarten sollen, daß sie sich eher in umgekehrter Richtung auswirke. Viel näher lag es, in diesem Effekt eine Folge davon zu sehen, daß die unmittelbar vor dem Pflücken photosynthetisch aktiv gewesene Frucht an CO_2 verarmt ist und daß nach dem Verdunkeln sich erst allmählich ein neues Gleichgewicht zwischen CO_2-Produktion und CO_2-Ausscheidung einstellt. Für diese Deutung sprechen folgende Befunde:

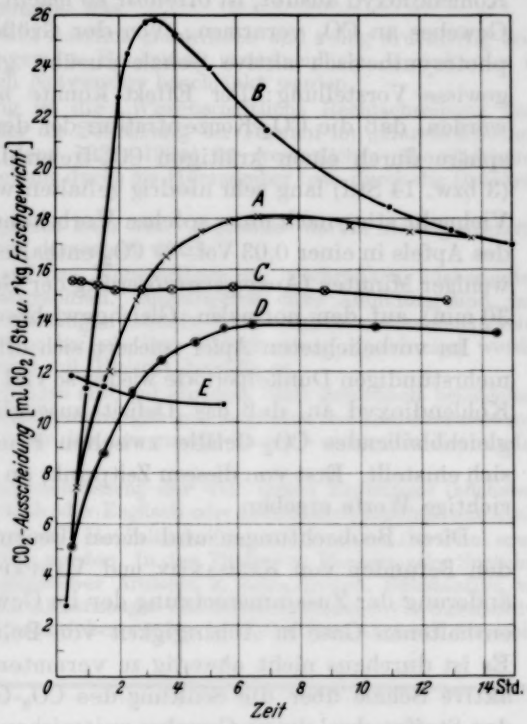


Abb. 1. CO_2-Ausscheidung von unreifen Äpfeln der Sorte „Goldparmäne" im Dunkeln, gemessen mit dem Ultrarotabsorptionsschreiber „Uras". Die Früchte wurden im Zeitpunkt 0 (Abszisse) in die Atmungskammer eingeschlossen. Kurven *A*, *C*, *D* und *E*: CO_2-Ausscheidung in Luft; Kurve *B*: CO_2-Ausscheidung in Stickstoff (rein). Kurve *A*: Apfel nach 7stündiger Beleuchtung unmittelbar vor Messungsbeginn gepflückt. Kurve *B*: Apfel nach 8stündiger Beleuchtung unmittelbar vor Messungsbeginn gepflückt. Kurve *C*: Apfel nach 21stündiger Verdunkelung unmittelbar vor Messungsbeginn gepflückt. Kurve *D*: Apfel 26 Std vor Messungsbeginn gepflückt und vor Messungsbeginn 8 Std lang dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt. Kurve *E*: Apfel 72 Std vor Messungsbeginn gepflückt und vor Messungsbeginn 14 Std lang in einem CO_2-armen Luftstrom (etwa 0,003 % CO_2 bei Austritt aus der Atmungskammer) gehalten

1. Der Effekt tritt nicht auf, wenn die CO_2-Ausscheidung von Früchten gemessen wird, die bereits vor dem Pflücken (und vor der unmittelbar anschließenden Atmungsmessung) mehrere Stunden verdunkelt gewesen sind. Vielmehr stellt sich die CO_2-Ausscheidung so vorbehandelter Früchte sofort auf einen hohen Wert ein, wie er von vorbelichteten Früchten erst im Verlauf einiger Stunden nach Verdunkelung erreicht wurde (Abb. 1, Kurve *C*).

2. Der Effekt tritt auch an Früchten auf, die bereits 24 Std vor Beginn der Atmungsmessung gepflückt und erst vor Messungsbeginn einige Stunden lang belichtet worden waren (Abb. 1, Kurve *D*).

Es scheint demnach so zu sein, daß die dünne photosynthetisierende Schale, die massemäßig gegenüber dem Fruchtfleisch ja weit zurücktritt,

doch auf die Gasverhältnisse im Innern der Frucht sich bemerkenswert stark auswirkt. Der Sog, den die photosynthetisch aktive Schale auf das im Fruchtfleisch enthaltene und fortlaufend sich bildende Kohlendioxyd ausübt, ist offenbar so mächtig, daß mindestens Teile des Gewebes an CO_2 verarmen. Von der Größe dieses CO_2-Soges, den die photosynthetisch aktive Schale ausübt, gibt folgender Versuch eine gewisse Vorstellung: Der Effekt konnte *nicht* dadurch hervorgerufen werden, daß die CO_2-Konzentration der den Apfel umgebenden Atmosphäre durch einen kräftigen CO_2-freien Luftstrom mehrere Stunden (3 bzw. 14 Std) lang sehr niedrig gehalten wurde (0,002—0,003 Vol.-%). Vielmehr stieg nach einer solchen Vorbehandlung die CO_2-Ausscheidung des Apfels in einer 0,03 Vol.-% CO_2 enthaltenden Atmosphäre innerhalb weniger Minuten (Anzeigeverzögerung der Gesamtapparatur betrug etwa 30 min) auf den normalen Gleichgewichtswert an (Abb. 1, Kurve *E*).

Im vorbelichteten Apfel reichert sich offenbar erst im Verlauf einer mehrstündigen Dunkelperiode wieder so viel durch Atmung entstandenes Kohlendioxyd an, daß das Defizit ausgeglichen wird und ein nahezu gleichbleibendes CO_2-Gefälle zwischen Fruchtfleisch und Atmosphäre sich einstellt. Erst von diesem Zeitpunkt an würden Atmungsmessungen richtige Werte ergeben.

Diese Beobachtungen und deren Deutung stehen in Einklang mit den Befunden von Kursanov und Vartapetian (1956) über die Veränderung der Zusammensetzung der im Gewebe grüner Tomatenfrüchte enthaltenen Gase in Abhängigkeit von Belichtung und Verdunkelung. Es ist durchaus nicht abwegig zu vermuten, daß die photosynthetisch aktive Schale über die Senkung des CO_2-Gehaltes des Fruchtgewebes den Stoffwechsel dieses Gewebes weitreichend beeinflußt, unter anderem durch Verschiebung der Gleichgewichtslagen von Decarboxylierungsvorgängen. Es deuten sich hier Parallelen an zum Säurestoffwechsel der Crassulaceen (Wolf 1931, 1949).

Literatur

Kursanov, A. L., i B. B. Vartapetian: Die physiologische Rolle des Chlorophylls in Tomatenfrüchten. Fiziol. Rastenij **3**, 214—224 u. engl. Zus.fass. Suppl. **1956**, 4 [Russisch]. — Winter, E.: Indicator für die Kohlendioxydsättigung von Kalilauge. Z. anal. Chem. **156**, 281—283 (1957). — Wolf, J.: Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. Planta (Berl.) **15**, 572—644 (1931). — Beiträge zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Crassulaceen. VI. Mitt. Neuere Vorstellungen vom Chemismus des Säurestoffwechsels. Planta (Berl.) **37**, 510—534 (1949).

Dr. habil. J. Wolf, Karlsruhe, Kaiserstr. 12,
Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach Jansen" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Tabellen zur Röntgenstrukturanalyse

Von **Konrad Sagel**, Frankfurt am Main. (Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis. Herausgegeben von **H. Mayer-Kaupp**. Band VIII). VIII, 204 Seiten 8°. 1958. Steif geheftet DM 28.—

Das Tabellenwerk entstand aus dem Bedürfnis heraus, dem Röntgenpraktiker bei seiner täglichen Arbeit das ständige zeitraubende Nachschlagen und Suchen in den verschiedensten Büchern oder das Ausrechnen nichttabellierter Funktionen zu ersparen. Die Vielfältigkeit des Gebotenen macht das Buch für alle Probleme der Röntgenstrukturanalyse zu einem wertvollen Hilfsmittel, das eine bis jetzt bestehende Lücke in dem Fachschriftentum schließt. Wer sich als Physiker, Chemiker oder Metallkundler mit Röntgenuntersuchungen beschäftigt, wird in den Tabellen und den Formelsammlungen für alle Aufgaben eine unentbehrliche Unterstützung finden.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Ergebnisse der Mikrobiologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie

Herausgegeben von **W. Kikuth**, Düsseldorf, **K. F. Meyer**, San Franzisko, **E. G. Nauck**, Hamburg, **A. M. Pappenheimer** jr., New York, **J. Tomesik**, Basel.

Soeben erschien:

Einunddreißigster Band: Mit 43 Abbildungen. IV, 256 Seiten Gr.-8°. 1958. DM 54.—

Inhaltsübersicht: **Allgemeine Morphologie menschen- und tierpathogener Virusarten.** Von W. Schäfer, Tübingen. — **Die enzymatische Anpassung bei Mikro-Organismen ohne Veränderung des Erbgutes.** Von M. Leiner, Mainz. — **Alte und neue Probleme der Staphylokokken.** Von L. Grün, Düsseldorf. — **Die Rückfallfieber.** Von H. Mooser, Zürich. — Namen- und Sachverzeichnis.

Im Juni 1957 erschien:

Dreißigster Band: Mit 63 Abbildungen. III, 343 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 68.—

Inhaltsübersicht: **Multicellularity in Bacteria.** By K. A. Bisset, Birmingham/Great Britain. — **Bacterial Flagella and Motility.** By A. Pijper, Pretoria/South Africa. — **Die Anwendung von Phagen in der bakteriologischen Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Typisierung von Typhus- und Paratyphus B-Bakterien sowie Staphylokokken.** Von H. Brandis, Frankfurt a. M./Deutschland. — **Das Kauffmann-White-Schema.** Von F. Kauffmann, Kopenhagen/Dänemark. — **Activités Bactériolytiques des Microorganismes.** Par M. Welsch, Liège/Belge. — **Die Bakteriencytologie im Vergleich zum Feinbau höher differenzierter Zellen.** Von H. Ruska, Albany (New York)/USA. — **Die serologische Diagnostik der Viruserkrankungen des Menschen.** Von W. Hennessen, Düsseldorf/Deutschland. — Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany